"Beeinflussung der T-Zellaktivität bei chronischer Lymphadenose durch verschiedene Therapieformen"

Rolf Issels

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535715_0011

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Begemann

Mitberichterstatter: Prof.Dr. W. Wilmanns

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22. März 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
EINFÜHRUNG MIT PROBLEMSTELLUNG	1
Normale Lymphozytopoese	2
CLL-Lymphozytenpopulationen	4
a) Leukämische Lymphozyten der CLL	4
b) T-Lymphozyten der CLL	4
c) B-Lymphozyten der CLL	6
MATERIAL UND METHODEN	7
1. CLL-Patienten	7
2. PHA-Lymphozytentest	7
a) Reagenzien	9
b) Gewinnung des Leukozytenkonzentrats	10
c) Abtrennung der Lymphozyten	10
d) Kulturansätze und Zellernten	11
e) Auswertung	12
f) Morphologie	12
3. Rosettentest	14
a) Reagenzien	14
b) Methode	14
c) Auswertung	15
4. Vitalitätstest	16

Seite

ERGEBNISSE 17

I. Verläufe bei extrakorporaler Blutbestrahlung 19

- Tabelle 1 (PHA-Kulturen) 20/21
- Patienten und Abbildungen 22
- Tabelle 2 (Rosettenansätze) 30
- Patienten und Abbildungen 31

Zusammenfassung der Ergebnisse bei extrakorporaler Blutbestrahlung 34

a) PHA-Stimulation 34
b) Rosetten-Test 35

II. Verläufe bei Milzbestrahlung 36

- Tabelle 3 36
- Patienten und Abbildungen 37

Zusammenfassung der Ergebnisse bei Milzbestrahlung 40

III. Verläufe bei zytostatischer Therapie 41

- Tabelle 4 41
- Patienten und Abbildungen 42

Zusammenfassung der Ergebnisse bei zytostatischer Therapie 43

IV. Verläufe bei ACTH-Therapie 44

- Tabelle 5 45
- Patienten und Abbildungen 46

Zusammenfassung der Ergebnisse bei ACTH-Therapie 47

DISKUSSION 48

ZUSAMMENFASSUNG 53

LITERATURVERZEICHNIS 54

EINFÜHRUNG

Das klinische Immundefektsyndrom bei Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) bestimmt in den meisten Fällen den Krankheitsverlauf entscheidend (10, 14).

Im Vordergrund klinischer Fragestellungen steht das Problem, welche Therapiemethoden geeignet sind, neben den üblichen hämatologischen Parametern auch den zellulären Immundefekt und damit die Prognose des Patienten in diesem kritischen Punkt zu verbessern.

In vorliegender Arbeit wurden die verschiedenen therapeutischen Methoden in der Langzeitbehandlung der CLL, die im wesentlichen auf eine Depletion der peripheren Lymphozytose abzielen, über erste Ergebnisse nach extrakorporaler Blutbestrahlung (ECIB) hinaus (85, 87) hinsichtlich ihres Einflusses auf die T-Zellaktivität vergleichend untersucht und dem klinischen Verlauf korreliert.

Einer schematischen Darstellung der normalen Lymphozytopoese mit ihrer dichotomen Differenzierung zu immunkompetenten T- und B-Lymphozyten folgt eine kurze Beschreibung der verschiedenen CLL-Lymphozytenpopulationen nach den heute bekannten Immunitätscharakteristika.

Dabei wird das klinisch relevante Immundefektsyndrom der CLL auf zellulärer Basis definiert und die Bedeutung der T-Lymphozyten verdeutlicht.

Normale Lymphozytopoese

Die undeterminierten Stammzellen der Lymphozytopoese, die mit den pluripotenten Stammzellen der Hämatopoese identisch sind (55, 96), stammen beim Menschen aus dem Knochenmark (33).

Unter Annahme einer sich daraus entwickelnden allgemein lymphatisch-determinierten Stammzelle als nächster Stufe (92) setzt auf dieser frühen Stufe eine Dichtomie ein.

Unter humoralen (24, 30, 82) Einflüssen des Thymus (98) entwickeln sich einerseits T-determinierte Stammzellen. Als langlebige bzw. aproliferative und rezirkulierende (37, 64) T_1-Lymphozyten besiedeln sie Thymus-abhängige Areale der sekundären lymphatischen Gewebe (paracorticale Lymphknotenregion, periarteriole Region der weißen Milzpulpa) und sind als primäre immunkompetente Lymphozyten anzusehen (91).

Nach Reaktion mit einem spezifischen Antigen werden diese Zellen aktiviert und zu Immunoblasten transformiert.

Diese Transformation kann auch auf unspezifische Weise durch Phytohaemagglutinin (PHA) induziert und in-vitro gemessen werden (18).

Die Immunoblasten sind als Mutterzellen spezifischer Immunzellklone aufzufassen, die als sog. T_2-Effektorzellen verschiedene Funktionen der T-lymphozyten-abhängigen Immunität ausüben (Übersicht 53).

So stellen sie die kurzlebigen Fraktionen der Suppressor-T-Zellen (44, 61), die kurzlebigen Helfer-T-Zellen (36) und die zytotoxischen killer-T-Zellen (53).

Daneben wird aber bei jedem spezifischen Antigenkontakt eine spezifische "memory-Zelle" entwickelt, die langlebig ist und rezirkuliert (22, 35). Diese Gedächtniszellen transformieren bei erneutem Kontakt mit dem spezifischen Antigen wieder zu Immunoblasten und lösen so eine Reaktion aus (94). Da T-Lymphozyten außerhalb des Thymus überwiegend langsam umgesetzt werden, entfällt ihr Maximum auf diese memory-Population (25, 65, 76).

Als zweiter Prägungsort fand sich tierexperimentell die Bursa Fabricii (98), woher sich die Bezeichnung B-Lymphozytenreihe ableitet. Beim Menschen sind das Knochenmark selbst, das lymphatische Darmorgan, Milz und Leber als Bursa-Äquivalente aufzufassen (1, 62, 90). In diesen Bursa-äquivalenten Organen entwickeln sich aus B-determinierten Stammzellen B_1-Lymphozyten, die sich in den B-Regionen von Milz und Lymphknoten ansiedeln (58).

Auf Antigenreiz treten nach Askonas (3) zwei verschiedene Reaktionsformen auf. Die sog. Plasmazellreaktion führt zur Ausbildung von Plasmazellen, die primär fast ausschließlich IgM-Antikörper produzieren (93). Diese Reaktion ist T-zell-unabhängig (78). T-zell-abhängig ist die komplizierte Keimzentrumsreaktion, in deren Verlauf es zur Entwicklung von Keimzentren, morphologisch abgrenzbaren Zentrozyten und langlebigen B-memory-Zellen kommt (49).

Diese B-memory-Zellen können offenbar bei erneutem Antigenkontakt zu Immunoblasten und Zentroblasten reifen (62), die eine Sekundärreaktion einleiten, bei der vor allem IgG synthetisiert wird.

Die einzelnen Stufen dieser Zellinien sind durch zunehmend spezifische Oberflächencharakteristika als Reifungszeichen identifizierbar (Übersicht 6, 26, 95).

CLL-Lymphozytenpopulationen

a) Leukämische Lymphozyten der CLL

Durch diese neueren Erkenntnisse über Differenzierungsmöglichkeiten und Funktion menschlicher T- und B-Lymphozyten lassen sich über 90 % der bei chronischer lymphatischer Leukämie auftretenden Lymphozyten bei immunologischen Ansätzen der Zellcharakterisierung als B-artige Zellpopulation definieren (11, 19).

Dabei unterscheidet sie sich durch veränderte Oberflächeneigenschaften (2, 7, 65), monoklonale Prägung (39, 42, 60, 65, 71) und fehlende Differenzierungsmöglichkeit (zu Plasmazellen) bei ausbleibender Ig-Sekretionsleistung von normalen B-Lymphozyten.

Verglichen mit der oben dargestellten normalen Lymphozytopoese deuten die erfaßbaren Zellkriterien dieser Lymphozytenpopulation auf eine Verwandtschaft der dort beschriebenen B_1-Lymphozyten hin (Übersicht bei 84).

b) T-Lymphozyten der CLL

Neben der für die CLL pathognomonisch veränderten B-Zellpopulation fand sich in den meisten Fällen eine normale oder sogar erhöhte absolute Anzahl von T-Lymphozyten (20, 52, 84).

Mit Hilfe des Rosettentests lassen sich die T-Lymphozyten, die einen spezifischen Membranrezeptor für Schafserythrozyten (SRBC) besitzen,

als SRBC-Rosetten-bildender T-Zellanteil in-vitro quantifizieren (s. Material und Methoden). Selbst in fortgeschrittenen Stadien der Lymphozytose liegt bei abnehmendem relativen T-Zellanteil die Gesamtzahl dieser funktionsfähigen, immunkompetenten Lymphozyten über der Normgrenze.

Der zelluläre Immundefekt der T-Lymphozyten besteht in einer verminderten Zelltransformation und zellulären Reaktion auf antigene Reize (56, 66, 67, 75). Dabei korreliert das Ausmaß dieses Defektes nicht streng mit der peripheren Lymphozytose (87).

Die PHA-Stimulierbarkeit der Lymphozyten, gemessen an ihrer ^{3}H-Thymidin-Inkorporation in-vitro; läßt sich als direktes Maß der T-Zellaktivierung deuten (47) (s. Material und Methoden).

Die stark erniedrigte und meist verzögert einsetzende PHA-Reaktion bei CLL-Patienten erklärt sich dadurch, daß die überwiegende Mehrheit der Lymphozyten B-Zellcharakteristika trägt. Somit ist die noch erhaltene PHA-Transformation auf die Restpopulation normaler T-Lymphozyten zurückzuführen, wie sie Pentycross (59) forderte und Wybran und Chantler (97) isolieren konnte. Auch die normale Poliferationskinetik PHA-stimulierter CLL-Lymphozyten in-vitro deutet auf eine normale T-Zellfraktion (57) hin.

Aus den angegebenen Befunden zeigt sich, daß der zelluläre Immundefekt nicht auf einen absoluten quantitativen T-Zellmangel zurückzuführen ist, sondern auf einer starken Verdünnung der T-Lymphozytenkonzentration durch die abnorm erhöhte B-Zellfraktion beruht (23, 95).

Dabei liegt die T-Zellfraktion meist unter 5 % gegenüber einem 70 - 80 %igen T-Zellanteil bei Normalpersonen.

c) B-Lymphozyten der CLL

Die über lange Zeiträume der Erkrankung noch normalen Immunglobulinwerte bei selbst ausgeprägter Proliferation krankheitsspezifischer Zellelemente deuten auf eine Restpopulation zu normaler Entwicklung fähiger B-Lymphozyten (21). Darüber hinaus konnte bei CLL die normale Ausreifung einer morphologisch charakterisierbaren Plasmazellfraktion mit typisch kurzen Umsatzzeiten gezeigt werden (84).

Das im weiteren Verlauf der Erkrankung progrediente und unaufhaltsame Absinken der Immunglobulinspiegel könnte einerseits durch eine zunehmende Verödung dieser normalen B-Zell-Restpopulation bedingt sein. Zum anderen ist für die Gamma-Globulin-Produktion die Einwirkung von T-Helfer-Zellen nötig (53), so daß der humorale Immundefekt durch absolutes Absinken dieser T-Effektorzellfraktion, aber auch durch ihre Verdünnung (89) erklärbar wäre (84).

MATERIAL UND METHODEN

1. CLL-Patienten

Zwischen Oktober 1970 und März 1974 wurden insgesamt 16 Patienten mit typischer chronischer Lymphadenose (CLL) in verschiedenen Phasen ihrer Erkrankung entsprechenden unterschiedlichen therapeutischen Verfahren unterzogen.

Vor, während und nach der Therapie wurde bei diesen Patienten möglichst in 4- bis 6wöchigen Intervallen die PHA-Lymphozytentransformierbarkeit überprüft.

Bei weiteren 3 CLL-Patienten, bei denen im Zeitraum zwischen April 1975 und März 1978 jeweils eine extrakorporale Blutbestrahlung durchgeführt wurde, erfolgte eine quantitative Bestimmung der T-lymphozytenabhängigen Rosettenbildung unter dem Einfluß der Bestrahlung.

Auf Hauttests wurde wegen ihrer bekannten Ambivalenz (13, 27) und der Schwierigkeit bei ambulanter Durchführung verzichtet. Die klinischen Daten sind dem Ergebnisteil zu entnehmen.

2. PHA-Lymphozytentest

Eine Reihe pflanzlicher Substanzen, die zusammenfassend als Lectine oder Phytomitogene bezeichnet werden, haben ähnlich spezifischen Antigenen die Fähigkeit, Lymphozyten zur Zellteilung und Blastentransformation zu stimulieren.

Damit läßt sich durch den unspezifischen Reiz des Phytomitogens die physiologischerweise auf spezifischen Antigenkontakt in-vivo folgende Reaktionskette in-vitro induzieren und messen.

Phytohaemagglutinin (PHA), das am weitesten untersuchte Mitogen, stimuliert nur T_1-Lymphozyten (8, 18, 21, 75). Als Meßgrößen der PHA-induzierten T-Lymphozytentransformation bieten sich neben der Bestimmung des Blastenindex, der auf die S-Phase bezogene Einbau von radioaktiv-markiertem Material in neu-synthetisierte DNA an.

Für den PHA-in-vitro-Test wurde die modifizierte Methode von Greaves und Mitarb. (31, 38) angewandt.

a) Reagenzien

1. Kulturmedium (Eagles Minimal Essential Medium = EMEM oder RPMI 1640)

2. Fetal-calf-serum (Grand Island) inaktiviert durch Erhitzen 30 min. bei 56° C

3. L-glutamin 200 mM

4. Antibiotika-Zusatz Penicillin 200 U/ml
Streptomycin 100 ug/ml

Komplettes Kulturmedium (aus 1 - 4)

4 Teile EMEM
1 Teil Fetal-calf-serum (inaktiviert)
1 % L-glutamin
1 % Antibiotikazusatz (s. o.)

5. PHA (Wellcome Reagents, Gefriergetrocknete Stammpräparation in 5 ml aqua dest. gelöst).

6. ^{3}H-Thymidin
^{3}H-Cytidin (Radiochemicals Centre) (Spez. Akt. 2 Ci/mM
800 mCi/mM)

7. 0,5 %-NaOH

8. 0,14 M-NaCl (Physiologische Kochsalzlösung)

9. Szintillationslösung

2,5 Dephenyloxazol (PPO) 6 g
2,2'-p-Phenylen- bis (5-phenyl-oxazol) (POPOP) 0,05 g
Toluol ad 1 000 ml

b) Gewinnung des Leukozytenkonzentrats
(S t e r i l e s Arbeiten erforderlich!)

Entnahme von 20 ml heparisiertem Venenblut mit vorbereiteter Spritze (5 USP-Heparin/ml) aus der gestauten Armvene.

Zusätzlich für Hämoglobinbestimmung, Erythrozyten- und Leukozytenzählung 0,5 ml Venenblut in Mikro-EDTA-Röhrchen abtropfen lassen. Ausstrichpräparate für Differentialblutbild anfertigen.

Das entnommene heparinisierte Blut in 30 ml-Schraubglasgefäße bei 37° C (Inkubator) ca. 60 Minuten sedimentieren lassen.

Überstand (Leukozyten und Plasma) vorsichtig mit Pasteurpipette abheben und in 10 ml-Spitzröhrchen überführen.

Zentrifugieren bei 1 000 rpm, 10 min., 27° C.

Überstand abkippen.
Pellet mit EMEM vorsichtig resuspendieren.

Zentrifugieren bei 1 000 rpm, 10 min., 27° C.

Waschvorgang wiederholen.

Nach Zentrifugation Aufnahme des Pellets (gewaschene Leukozyten) in komplettem Kulturmedium.

c) Abtrennung der Lymphozyten

Sterile, mit Leukopak-Nylonfasern gestopfte Trennsäule bei 37° C mit komplettem Kulturmedium äquilibrieren.

Gewaschenes Leukozytenkonzentrat auf die Säule auftragen und mit komplettem Medium nachspülen bis die Säule zu 2/3 gefüllt ist (gelbliche Leukozytenbande).

Säule 15 min. bei 37° C stehen lassen.

Danach Säule mit komplettem Kulturmedium eluieren.

Das Eluat enthält zu 98 % angereichertes Lymphozytenkonzentrat. Bei der Passage durch die Säule werden fast keine Lymphozyten, und wenn dann nur einige aus der B-Zellpopulation retiniert (38, 75).

d) Kulturansätze und Zellernten

Nach Zellzahlbestimmung des Lymphozytenkonzentrats (Neubauer-Zählkammer) werden Kulturfläschchen mit 10^6 Lymphozyten pro ml komplettem Kulturmedium angesetzt.

Die Zellkulturen werden in 5 % CO_2-luftbegastem Kulturschrank bei 37° C aufbewahrt.

Zu jedem Ansatz werden 0,025 ml PHA (Verdünnungsfaktor 1 : 40) zugesetzt.

Ernten erfolgen in 24stündigen Abständen nach PHA-Zusatz bis zum 8. Tag.

Zwei Stunden zuvor wird 1 uCi/ml ^{3}H-Thymidin bzw. ^{3}H-Cytidin zugegeben.

In mehreren Waschvorgängen (3mal Zentrifugieren, 1 000 rpm, 10 min. bei 4° C, physiologische NaCl-Lösung) wird die ungebundene Aktivität beseitigt.

Aufnehmen mit 0,5 %-NaOH und Zugabe der Szintillationslösung im Verhältnis 1 : 10.

Die Bestimmung des inkorporierten Nukleosids erfolgte im Flüssigkeitsszintillationszähler.

e) Auswertung

Jeder Ansatz wurde 3fach durchgeführt. Die folgenden Werte stellen Mittelwerte der durchschnittlich ± 7 % streuenden Einzelbestimmungen dar. Die Streuung der individuellen Werte bei Normalpersonen ist bekannterweise breit (27). Sie lag für die Thymidin-Inkorporation zwischen 6 000 und 10 000 cpm und war für die Cytidin-Inkorporation noch weiteren Schwankungen zwischen 20 000 und 40 000 cpm unterworfen. Daher werden im Ergebnisteil lediglich die Veränderungen im Verlaufe der Behandlung eines Patienten relativ zum Ausgangswert als Quotient ausgedrückt. Dabei ist das Schwergewicht auf die weniger labilen, aussagekräftigeren Thymidin-Werte (18) gelegt. Im Laufe der Therapie eines Patienten wurde jeweils der Maximalwert verglichen, der ohne Konstanz am 3. bis 5. Tag, meist am 4. auftrat. Deutliche Zweigipfligkeit war (67) wie auch bei anderen Autoren (57, 68), selten zu verzeichnen.

f) Morphologie

Zur morphologischen Charakterisierung der Lymphozytenkulturen wurde jeweils bei den Zellernten ein radionuklidfreier Kulturansatz mitgeerntet.

Nach einmaligem Waschen wird dabei eine definierte Menge der Lymphozytensuspension in einer Zytozentrifuge durch Zentrifugieren bei 500 rpm, 5 min. auf Objektträger fixiert.

Färbung nach May-Grünwald.

Die exakte mikroskopische Auszählung des prozentualen PHA-induzierten Lymphoblastenanteils (= Blastenindex) erwies sich durch die starke Fragilität des Zellmaterials und die spezifischen Agglutinationen der Zellen oft als zu stark behindert, so daß sie wie in den meisten Studien zugunsten der szintillatorisch ermittelten Nukleosidinkorporations-Bestimmung aufgegeben wurde (51, 66).

In jedem Fall aber fand sich bei der qualitativen morphologischen Beurteilung ein gesteigerter Blastenanteil bei Kulturansätzen mit hohem Nukleosideinbau.

3. Rosettentest

Reife T-Lymphozyten haben die Fähigkeit, mittels eines SRBC-Rezeptors in-vitro Schafserythrozyten in einer rosettenähnlichen Form an sich anzulagern, auch wenn zuvor keine Sensibilisierung gegen Schafserythrozyten stattgefunden hat.
Neben dem PHA-Transformationstest ist der Rosettentest augenblicklich das wichtigste Erkennungsmerkmal der T-Lymphozyten, auch in der Klinik (9).

a) Reagenzien

1. Schafserythrozyten (SRBC) mit Stabilisatorzusatz (Behringerwerke, Marburg)
2. Enzym Neuraminidase (Behringerwerke, Marburg)
3. 0,14 M-NaCl (≙ physiologische Kochsalzlösung)
4. Komplettes Kulturmedium (s. bei PHA-Test)

b) Methode

Für die Rosettenbestimmung wurde die modifizierte Methode nach Bentwich (11) verwendet.

Schafserythrozyten (SRBC) werden in silikonisierten Röhrchen mit 0,14 M-NaCl (Verhältnis 1 : 4) bei 37° C 3mal gewaschen (2 500 rpm, 10 min.), um den Stabilisator der SRBC-Stammlösung zu entfernen.

Nach letztem Waschvorgang wird die SRBC-Konzentration 4 x 10^7 Erythrozyten/ml eingestellt.

Danach erfolgt Zusatz des Neuraminidase-Enzyms (50 IU/10^7 SRBC) und Inkubation im Wasserbad bei 37° C, 30 min.

Anschließend wird die Neuraminidase durch 3maliges Waschen mit 0,14 M-NaCl entfernt (1 700 rpm, 10 min., 20° C).

2,5 ml der neuraminidasebehandelten Schafserythrozyten ($SRBC_N$) werden mit 2,5 ml Lymphozytenkonzentrat (2 x 10^6 Lymphozyten/ml komplettem Mediums) im Wasserbad, bei 37° C, 15 min. inkubiert. (Präparation des Lymphozytenkonzentrats s. PHA-Test).

Danach wird abzentrifugiert (900 rpm, 10 min., 4° C) und 30 Minuten in Eiswasser gekühlt.

Nach Resuspension in komplettem Medium wird ein Tropfen auf einen Objektträger mit einem Deckglas abgedeckt gegeben und unter dem Mikroskop der Prozentsatz Rosetten-bildender T-Lymphozyten bestimmt.

c) Auswertung

Es wurden jeweils 3mal 200 Zellen ausgezählt und der Mittelwert angegeben. T-Lymphozyten mit mehr als 4 Erythrozyten wurden als Rosetten gewertet. Normalpersonen (n = 8) zeigten nach dieser Methode durchschnittlich 37 % (± 6) Rosetten.

Für die Auswertung im Ergebnisteil wurde durch Multiplikation des prozentualen Rosettenanteils mit der Gesamt-Lymphozytenzahl pro ul des peripheren Blutes die absolute Zahl der T-Lymphozyten errechnet.

4. Vitalitätstest

O,5 ml Lymphozytensuspension wurde mit einem Tropfen O,5 % Trypan-blau-Lösung 15 Minuten bei 37° C inkubiert.

Danach wurden 2 x 100 Zellen ausgezählt.

Nach Separierung der Lymphozyten für die beschriebenen Testmethoden war der Anteil trypan-blau-gefärbter Zellen 3 %.

ERGEBNISSE

Der Ergebnisteil gliedert sich nach den verschiedenen phasengerecht angewandten therapeutischen Verfahren, deren Einfluß auf die T-Zellaktivität unabhängig voneinander untersucht wurde.

Jedem dieser Abschnitte wurde eine Tabelle vorangestellt, die sämtliche im folgenden Text besprochenen Kulturansätze zusammenfaßt.
Die Tabellen enthalten folgende Kolumnen:

1. Die erste Kolumne enthält das Patientensignum.

2. Die zweite Kolumne enthält die Bezeichnung der jeweiligen PHA-Kultur in alphabetischer Folge mit Großbuchstaben.

3. - 5. Kolumne enthält die Zeitangabe des in Kolumne 2. bezeichneten PHA-Kulturansatzes in Tagen.

3. Kolumne: PHA-Kultur am Xten Tag v o r der Therapie.

4. Kolumne: PHA-Kultur am Xten Tag w ä h r e n d der Therapie.

5. Kolumne: PHA-Kultur am Xten Tag n a c h der Therapie.

6. Kolumne: Maximale ^{3}H-Thymidin-Inkorporation cpm $\cdot 10^{-2}$ in gemittelten Werten des Kulturansatzes.

7. Kolumne: Quotient aus ^{3}H-Thymidin-Einbau zum Zeitpunkt und dem letzten Wert vor der jeweiligen Therapie. Dieser Faktor gibt ein Maß für die Steigerung (Quotient 1) bzw. Verminderung (Quotient 1) der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation.

8. Kolumne: Absoluter Lymphozytenwert $\cdot 10^{-3}$/ ul Blut zum angegebenen Zeitpunkt.

9. Kolumne: Klinische Milzgröße in Zentimetern unter dem Rippenbogen.

Jeder Tabelle folgt eine Vorstellung der einheitlich behandelten Patientengruppe.

Die Charakterisierung der einzelnen Patienten beschränkt sich auf wichtige anamnestische Daten, dem klinischen Befund vor der Therapie und dem Therapieverlauf. Dabei werden die in der Tabelle aufgeführten PHA-Kulturansätze interpretiert.

Der Vorstellung der Patienten mit den genannten Charakteristika folgen jeweils graphische Darstellungen, die klinische Angaben und die Therapie in zeitlicher Relation zu den PHA-Kulturansätzen veranschaulichen sollen.

Die Abbildungen (s. z. B. Abb. 1) enthalten in ihrer oberen Hälfte den Verlauf der absoluten Lymphozytenwerte (●), des Hämoglobins (o) und der absoluten Gamma-Globulin-Werte im Serum (X) während der Erkrankung über der Abszisse mit dem Zeitverlauf seit Diagnosestellung in Monaten. Zu beachten sind Raffungen des Zeitparameters in ambulanten Therapiephasen und Unterbrechungen (=) in größeren beobachtungsfreien Intervallen.

An Therapieformen sind eingetragen:

ECIB = extrakorporale Blutbestrahlung
MB = Milzbestrahlung
(mit Angabe der Anzahl von Sitzungen)
Z = Zytostatische Therapie
ACTH = Tetracosactid

Auf der unteren Hälfte der Abbildungen ist über der gleichen Zeitachse der ^{3}H-Cytidin- und ^{3}H-Thymidin-Einbau in jeweils 10^{6} Lymphozyten mit dem jeweiligen Maximalwert (am 3. bis 5. Tag der PHA-Kultur) aufgetragen. Von den mit Großbuchstaben in alphabetischer Folge gekennzeichneten Kulturansätzen auf den Abbildungen, werden nur diejenigen in den Tabellen berücksichtigt, die eindeutig zur jeweiligen Therapie zeitlich in Beziehung standen. (Weitere Angaben s. Material und Methoden).

I. Verläufe bei extrakorporaler Blutbestrahlung

Die Methodik der extrakorporalen Blutbestrahlung wurde andernorts detailliert beschrieben (10). Während der initialen Serie wurden fast täglich 4 Blutvolumenäquivalente durch eine ^{90}Co-Quelle (Dosisleistung 25 000 R/min) mit einer Geschwindigkeit geleitet, die eine mittlere Transitdosis von 180 rad ergab.

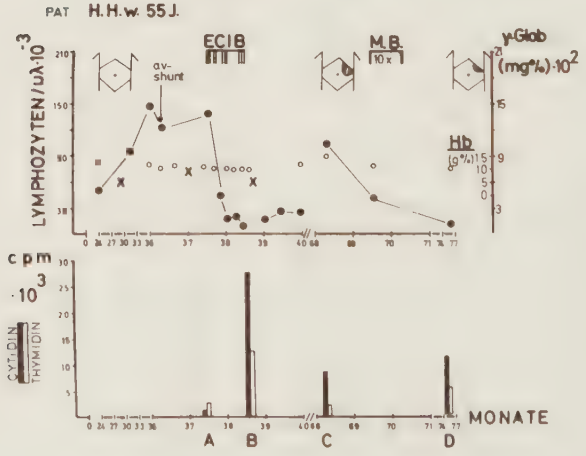
Tabelle 1

1. Patient	2. PHA-Kultur	3. vor	4. T A G E während E C I B	5. nach	6. $\frac{^3H\text{-Thymidin}}{10^2}$	7. Quotient	8. $\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	9. Milzgröße (cm)
H.H.	A	1			15		137	
	B			10	130	8.6	11	
H.I.	A	1			51		72	
	B		10		15	0.3	46	
	C			15	50	1	13	
	D		31		22	0.4	18	
	E		47		30	0.6	3	
	F			132	65	1.3	20	
	G			171	15	0.3	35	
S.M.	A	36			60		68	
	B		16		15	0.25	11	
	C			4	10	0.17	8	
	D			75	81	1.3	22	
	E			130	32	0.5	21	1
N.J.	A	15			30		190	
	B		164		15	0.5	25	
	C		210		8	0.28	44	
	D			34	48	1.62	30	
	E			128	164	5.5	45	
S.A.	A	1			15		158	
	B			10	25	1.7	14	
	C			224	15	1	96	

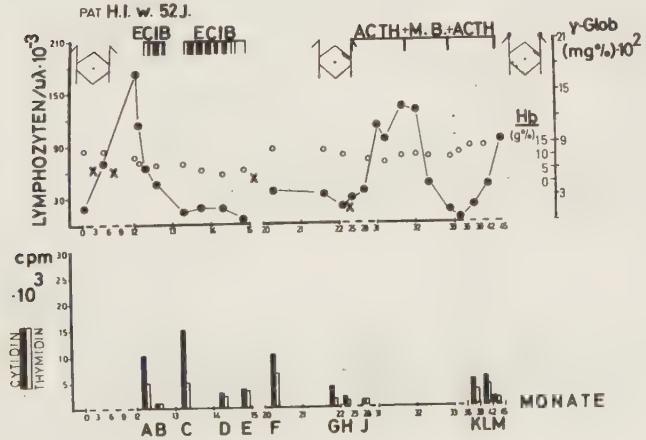
Tabelle 1 (Fortsetzung)

1. Patient	2. PHA-Kultur	3. vor	4. während	5. nach	6. $\frac{^3H\text{-Thymidin}}{10^2}$	7. Quotient	8. $\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	9. Milzgröße (cm)
			T A G E					
			E C I B					
B.F.	A	1			10		52	10
	B		5		5	0.5	38	15
	C			5	11	1	6	16
	D			30	9	0.9	6	15
	E			240	4	0.4	7	17
Ho. H.	A	5			8		120	24
	B		4		5	0.63	70	22
	C			90	5	0.64	15	25
D.H.	A	15			15		45	8
	B		9		5	0.3	32	10
	C			7	8	0.53	20	12
	D			180	7	0.47	110	15
M.G.	A	1			10		100	5
	B		10		7	0.7	52	6
	C			3	6	0.6	20	6
	D			30	11	1.1	90	10

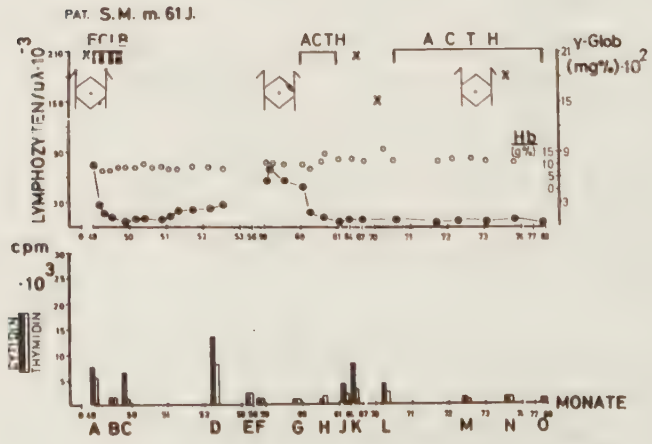
Pat. H.H., weiblich, 55 Jahre (Abb. 1).
Anamnese unauffällig, nie ernstlich krank.
CLL-Anamnesedauer 3 Jahre. Keine Vorbehandlung.
Innerhalb des Jahres vor Klinikaufnahme steil entwickelnde Lymphozytose mit beidseits axillär und inguinal auftretenden Lymphknoten ohne Splenomegalie. Bei Behandlungsbeginn deutliche Anämie und Hypogammaglobulinämie. Durchführung einer Serie extrakorporaler Blutbestrahlungen (insgesamt 10 800 rad, 12 Sitzungen).
In der Lymphozytenkultur (A) vor der Bestrahlung minimale PHA-Stimulierbarkeit, die 10 Tage nach letzter ECIB-Sitzung bei starker Lymphozytendepletion bis in den oberen Normbereich anstieg (B).



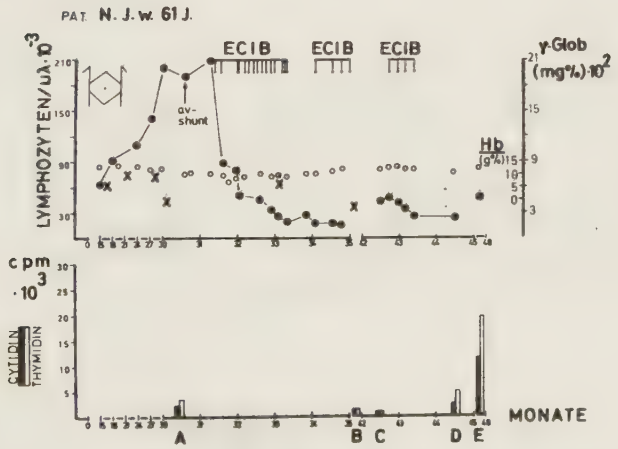
Pat. H.I., weiblich, 52 Jahre (Abb. 2).
Anamnese: 1961 Cholecystektomie, 1964 Total-OP Unterleib (Myom), sonst unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 1 Jahr, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn starke Lymphozytose mit ausgeprägter Anämie und deutlicher Hypogammaglobulinämie. Pflaumengroße Lymphknoten im rechten und linken Halsbereich, axillär und inguinal tastbar. Keine Milzvergrößerung.
Es wurden 2 Serien extrakorporaler Blutbestrahlungen mit 15 Tagen Abstand durchgeführt.
Vor der Bestrahlung gute Lymphozytentransformation, knapp unterhalb des Normbereichs (A). Während der 1. ECIB (insgesamt 8 000 rad, 9 Sitzungen) totale Depression (B). Nach 15 Tagen vor Beginn der 2. ECIB-Serie (17 000 rad, 21 Sitzungen) gute Erholung der Transformierbarkeit (C), die während dieses Bestrahlungszeitraums wieder abfällt (D, E), jedoch nicht so ausgeprägt wie zuvor. 132 Tage nach der letzten Bestrahlung (F) Erholung und Steigerung der Thymidin-Inkorporation in den unteren Normbereich, nach weiteren 40 Tagen trotz relativer Konstanz der Leukozytenzahlen wieder zunehmende Depression (G).



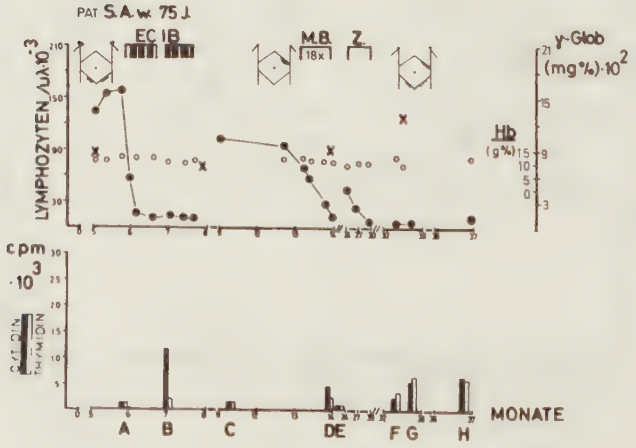
Pat. S.M., männlich, 61 Jahre (Abb. 3).
Anamnese: 1934 retrosternale Strumektomie. 1960 generalisiertes allergisches Exanthem, 1964 Appendektomie, 1967 Cholecystektomie.
CLL-Anamnesedauer 4 Jahre, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn Lymphozytose mit deutlicher Anämie. Keine Hypogammaglobulinämie. Beidseits supraclavikulär, axillär und inguinal Lymphknoten tastbar. Keine Splenomegalie.
Vor Therapiebeginn mit ECIB (11 000 rad, 14 Sitzungen) Thymidin-Inkorporation in unterem Normbereich (A). Totale Depression der Transformation während der Bestrahlung (B) und im Kulturansatz 4 Tage danach (C). Deutliche Steigerung des Cytidin und Thymidineinbaus in den unteren Normbereich nach 75 Tagen (D). Nach 130 Tagen wieder deutliche Depression (E) bei gleichzeitigem peripheren Lymphozytenanstieg.



Pat. N.J., weiblich, 61 Jahre (Abb. 4).
Anamnese unauffällig, nie ernstlich krank.
CLL-Anamnesedauer 2 Jahre, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn starke Lymphozytose mit deutlicher Anämie, Thrombozytopenie und Hypogammaglobulinämie. Beidseits axillär mandelkerngroße Lymphknoten, keine Splenomegalie.
Vor Therapie starker PHA-Transformationsdefekt (A), der während der intermittierend durchgeführten ECIB-Serien (insgesamt 14 000 rad) deutlich zunimmt (B, C), bei starker Depletion der peripheren Lymphozyten.
34 Tage (D) allmähliche bzw. 128 Tage (E) nach letzter Bestrahlung starke Zunahme der Lymphozytentransformation bis auf das 5fache des Ausgangswertes.



Pat. S.A., weiblich, 75 Jahre (Abb. 5).
Anamnese unauffällig, nie ernstlich krank.
CLL-Anamnesedauer 1/2 Jahr, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn Lymphozytose mit ausgeprägter Anämie und Hypogammaglobulinämie. Multiple Lymphknoten supraclaviculär, links axillär und inguinal tastbar, ohne Splenomegalie.
Vor der ECIB-Serie (insgesamt 15 000 rad, 18 Sitzungen) stark erniedrigte Ausgangstransformation in der Kultur (A). Bei starker gleichzeitiger Lymphozytendepletion zeigt sich 10 Tage nach der letzten Bestrahlung eine deutliche Steigerung der Nukleosid-Inkorporation, insbesondere im Cytidinwert (B). Fünf Monate nach Ende der ECIB-Serie wieder stark erniedrigte Transformation bei gleichzeitigem Lymphozytenanstieg (C).



Pat. B.F., weiblich, 70 Jahre.
CLL-Anamnesedauer 4 Jahre, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn Lymphozytose, deutliche Anämie und Hypogammaglobulinämie. Klinisch im Vordergrund steht die rasch zunehmende Splenomegalie auf 10 - 15 cm unter dem Rippenbogen.
Vor ECIB-Serie (insgesamt 8 000 rad, 11 Sitzungen) minimale PHA-Transformation (A), die auch während (B) und nach der Bestrahlung (C) erniedrigt bleibt. In den Kulturkontrollen 30 Tage (D) und 240 Tage nach letzter Bestrahlung (E) fortschreitende Erniedrigung der Nukleosid-Inkorporation bei unbeeinflußbarer Hyperspleniesymptomatik ohne Lymphozytenwiederanstieg.

Pat. Ho.H., männlich, 62 Jahre.
CLL-Anamnesedauer 7 Jahre. Keine Therapie im Laufe des letzten Jahres. Starke Lymphozytose bei gleichzeitiger Entwicklung eines Splenogigantismus (24 cm unter dem Rippenbogen). Vor Therapiebeginn max. PHA-Depression (A), die sich während der ECIB-Bestrahlungsserie mit insgesamt 11 500 rad noch verstärkt ausgeprägt zeigte (B). Keine Beeinflussung des Milzwachstums. Auch 90 Tage nach letzter Bestrahlung unverändert erniedrigte PHA-Transformation (C).

Pat. D.H., männlich, 55 Jahre.
CLL-Anamnesedauer 4 Jahre. Zwei Jahre zuvor extrakorporale Blutbestrahlung. Vor Behandlungsbeginn erneut starke Lymphozytose mit Splenomegalie (8 cm unter dem Rippenbogen).
Deutlicher Transformationsdefekt vor ECIB-Serie (insgesamt 10 000 rad, 11 Sitzungen) (A), der sich während der Bestrahlung deutlich verstärkte (B). Sieben und 180 Tage nach der letzten Bestrahlung weiterbestehende starke Depression (C, D). Milzwachstum bleibt unbeeinflußt. Rascher Lymphozytenwiederanstieg mit einer Verdoppelungszeit von etwa 2 Monaten.

Pat. M.G., weiblich, 60 Jahre.
Anamnese unauffällig. CLL-Anamnesedauer 2 Jahre. Keine Vorbehandlung. Rasch entwickelnde Lymphozytose im Halbjahr vor Therapie. Ausgeprägte Anämie und Hypogammaglobulinämie. Milz 5 cm unter dem Rippenbogen tastbar.
Vor ECIB-Serie (insgesamt 8 000 rad) starker PHA-Transformationsdefekt (A), der während (B) und 3 Tage nach der letzten Bestrahlung (C) noch ausgeprägter wurde. 30 Tage nach ECIB (D) Erreichung des niedrigen Wertes der PHA-Ausgangsreaktion. Die Milz hatte an Wachstum zugenommen. Rascher Anstieg der Lymphozyten mit einer Verdoppelungszeit von ca. 14 Tagen.

Bei 3 CLL-Patienten wurde der Anteil Rosetten-bildender Lymphozyten (s. Material und Methoden) unter dem Einfluß extrakorporaler Blutbestrahlung bestimmt. Die gefundenen Daten sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 2 enthält:

1. Kolumne: Patientensignum.

2. - 4. Kolumne: Den Zeitpunkt des Rosettenansatzes in Tagen.

2. Kolumne: Rosettenansatz am Xten Tag v o r der Therapie.

3. Kolumne: Rosettenansatz am Xten Tag w ä h r e n d der Therapie.

4. Kolumne: Rosettenansatz am Xten Tag n a c h der Therapie.

5. Kolumne: Absoluter Lymphozytenwert · 10^{-3}/ ul zum angegebenen Zeitpunkt.

6. Kolumne: % Rosetten-bildender Lymphozyten ($SRBC_N$-Ly)

7. Kolumne: Absolute Zahl Rosetten-bildender Lymphozyten aus dem Produkt prozentualer Rosettenanteil · absoluter Lymphozytenzahl/ ul zum angegebenen Zeitpunkt.

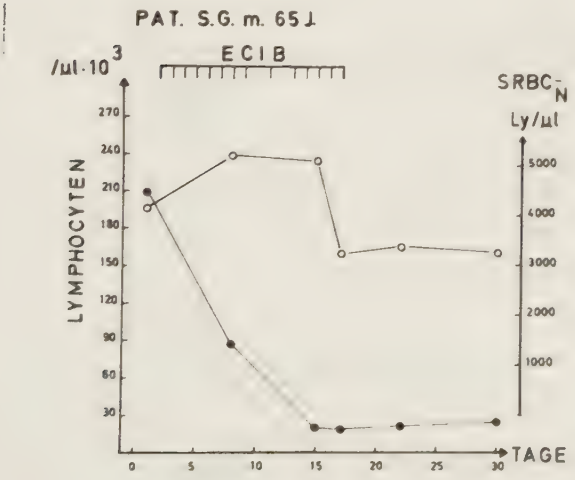
8. Kolumne: Quotient aus absoluter Lymphozytenzahl und absoluter Zahl Rosetten-bildender Lymphozyten zum angegebenen Zeitpunkt.

Der Vorstellung der Patienten folgen Abbildungen, die den Verlauf der absoluten Lymphozytenwerte (●) in Korrelation zur absoluten Zahl $SRBC_N$-Lymphozyten (o) während depletorischer ECIB-Behandlung verdeutlichen. Die Abszisse gibt den Zeitverlauf in Tagen wieder.

Tabelle 2

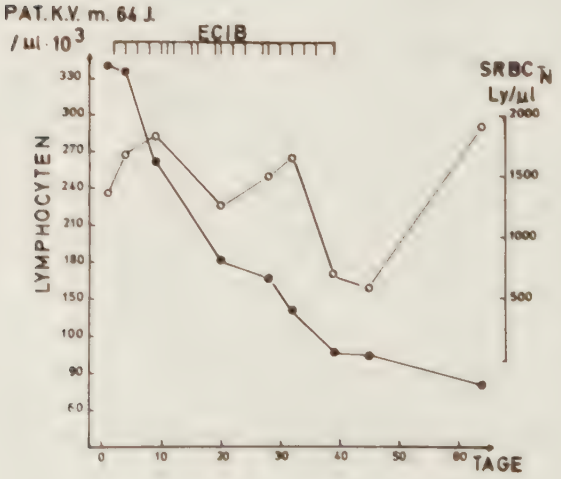
1. Patient	2. vor	3. TAGE während E C I B	4. nach	5. $\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	6. % Rosetten	7. absolute $\frac{SRBC_N\text{-}Ly}{ul}$	8. Quotient
S.G.	1			209	2	4180	50
		6		87	6	5220	16
		13		30	17	5100	6
		15		19	17	3230	6
			5	21	16	3360	6
			13	25	13	3250	8
K.V.	1			340	0.4	1360	250
		2		336	0.5	1680	200
		7		262	0.7	1834	143
		18		181	0.7	1267	143
		26		167	0.9	1503	111
		30		140	1.19	1666	84
		37		106	0.67	710	149
			6	103	0.58	597	172
			25	80	2.4	1920	42
			40	47	3.8	1786	26
H.V.	3			347	2.2	7643	45
		4		217	3.0	6510	33
		7		159	1.6	2544	62
		9		92	2.32	2134	43
		15		113	2.64	2983	38
		18		100	3.8	3800	26
		21		123	2.92	3581	34

Pat. S.G., männlich, 65 Jahre (Abb. 6).
Anamnese unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 2 Jahre. Vorbehandlung mit einer ECIB-Serie (insgesamt 11 000 rad). Innerhalb des Jahres vor Aufnahme steiler Lymphozytenanstieg.
Vor Behandlungsbeginn neben Lymphozytose Thrombozytopenie und Hypogammaglobulinämie. Milz vergrößert.
Behandlung erfolgt mit ECIB-Serie (insgesamt 9 000 rad, 10 Sitzungen).
Während der Bestrahlung starke Depletion der peripheren Lymphozytose mit einer starken relativen Zunahme der $SRBC_N$-Rosetten-bildenden Lymphozyten, die auch nach Bestrahlung anhält (vgl. Quotient in Tab. 2).
Die absolute Zahl Rosetten-bildender Lymphozyten ist ab 16. Tag der Bestrahlung reduziert.

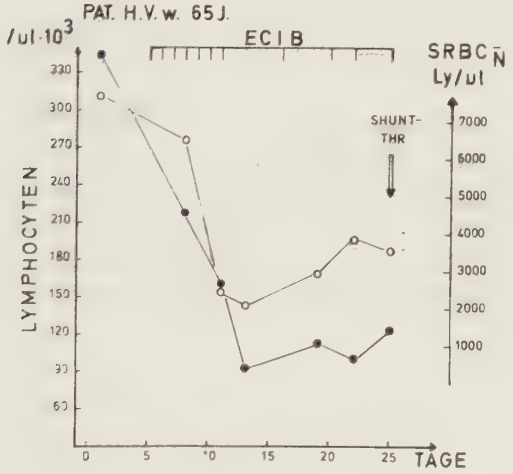


● = absolute Lymphozytenzahl
○ = absolute Zahl $SRBC_N$-Rosetten

Pat. K.V., männlich, 64 Jahre (Abb. 7).
Anamnese unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 6 Jahre. Vorbehandlung mit mehrfacher ECIB-Serie. Vor jetzigem Behandlungsbeginn extreme Lymphozytose bei stark ausgeprägter Anämie, Thrombozytopenie und Hypogammaglobulinämie. Milz vergrößert. ECIB-Bestrahlung mit insgesamt 16 000 rad. Bei starker Depletion der Lymphozytose während der Bestrahlung nur allmähliche relative Zunahme der $SRBC_N$-Rosetten-bildenden Lymphozyten, die aber 25 bzw. 40 Tage nach letzter ECIB-Sitzung stark zunimmt (vgl. Quotient Tab. 2). Absolute Zahl der Rosetten-bildenden Zellen ist gegen Ende und 6 Tage nach Bestrahlung reduziert, übertrifft aber am 25. und am 40. Tag nach letzter ECIB den Rosetten-Ausgangswert (vor Bestrahlung) bei anhaltender Lymphozytendepletion.



Pat. H.V. weiblich, 65 Jahre (Abb. 8).
Anamnestisch Diabetes mellitus bekannt.
CLL-Anamnesedauer 3 Jahre. Vor Behandlungsbeginn mit ECIB-Bestrahlung mäßige Anämie und Hypogammaglobulinämie bei extremer Lymphozytose. Cervical beidseits Lymphknoten tastbar. Milz nicht vergrößert.
Vor ECIB-Bestrahlung hohe absolute Zahl $SRBC_N$-Rosettenbildende Lymphozyten, die während der Bestrahlungsserie (insgesamt 10 000 rad) stark abnimmt. Abbruch der Therapie wegen Shunt-Thrombose. Eine relative Zunahme der Rosetten-bildenden Lymphozyten erfolgt erst am 15., 18. bzw. 21. Tag während der ECIB-Serie. (vgl. Quotient Tab. 2).



Zusammenfassung der Ergebnisse bei extrakorporaler Blutbestrahlung

a) PHA-Stimulation

Für die detailliert analysierbaren 9 ECIB-Fälle lassen sich folgende generelle Feststellungen hinsichtlich der T-Zellaktivität, gemessen am Wert der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation bei der PHA-Stimulierung machen:
Während der Bestrahlungsserie, jeweils 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung untersuchte Zellen zeigten in allen Fällen eine Erniedrigung auf ein Drittel bis die Hälfte des Ausgangswertes.
Nach Ende der Bestrahlungsserie war in 4 Fällen eine Steigerung auf das 1.3 - 5.5fache, in einem Fall sogar auf das über 8fache zu verzeichnen. Derartige Steigerungen der PHA-Stimulierbarkeit wurden frühestens nach 10 und spätestens nach 130 Tagen nachgewiesen.

In 4 weiteren Fällen wurde nach der Bestrahlungsdepression der Ausgangswert der PHA-Stimulierung vor Therapie weder erreicht noch überstiegen. Klinisch unterschieden sich letztere Fälle von der ersten Gruppe durch massive Splenomegalie und/oder raschen Neuanstieg der Lymphozytenwerte.

b) Rosetten-Test

Für die 3 CLL-Patienten, deren T-Zellen unter ECIB-Bestrahlung durch die Bestimmung des prozentualen T-Zellenanteils im Rosettentest quantifizierbar werden, ergeben sich folgende Befunde:

In allen 3 Fällen nimmt die absolute Zahl an T-Lymphozyten während und/oder nach Ende der ECIB-Bestrahlung ab.
Im Gegensatz dazu steigt der relative T-Lymphozytenanteil im peripheren Blut unter depletorischer Bestrahlungstherapie in allen Fällen an. Dabei wird gemessen am Verdünnungsverhältnis Gesamtlymphozyten zu Rosetten-bildendem T-Lymphozyt (≙ Quotient Tab. 8) in 2 Fällen der T-Zellanteil nach ECIB-Bestrahlung um das 6,2- bzw. 9,6fache konzentrierter gegenüber dem Verhältnis vor Bestrahlung.

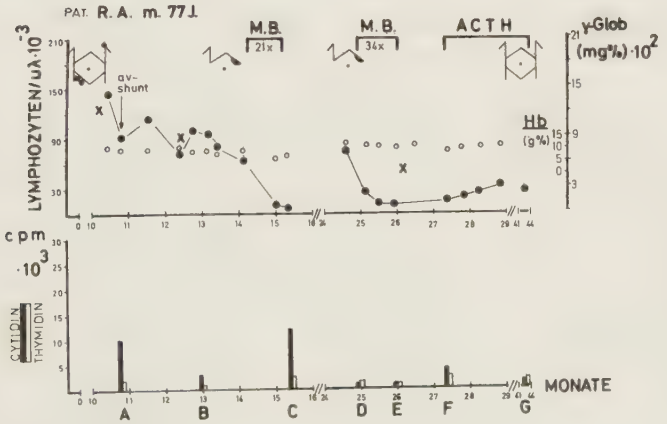
II. Verläufe bei Milzbestrahlung

Die Milzbestrahlung erfolgte mit dem Gammatron, täglich einmal mit 10 - 20 rad. Die Dauer der Bestrahlung ist den Graphiken zu entnehmen.

Tabelle 3

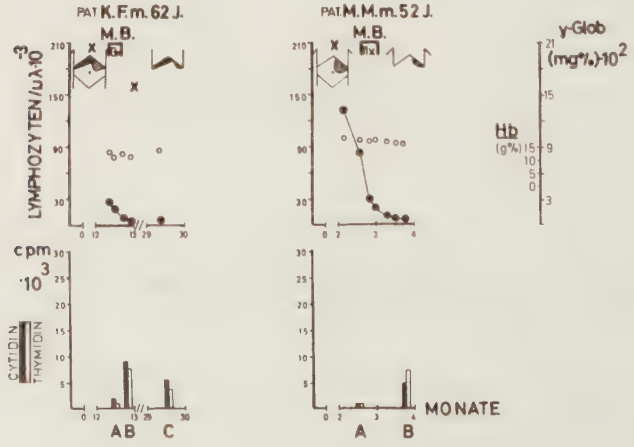
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Patient	PHA-Kultur	T A G E vor	während	nach	$\frac{^3H\text{-Thymidin}}{10^2}$	Quotient	$\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	Milzgröße (cm)
R.A.	B	38			10		81	6
	C			8	25	2.5	4	2
	D	8			15		80	3
	E		33		10	0.7	13	2
	F			69	40	2.7	18	1
K.F.	A	1			11		22	7
	B			1	80	8	3	3
	C			480	40	4	1	3
M.M.	A	3			8		80	10
	B			19	77	9.3	8	3
G.E.	A	1			10		20	21
	B			1	21	2	4	12
	C			27	15	1.5	4	11
	D	13			6.6		20	21
	E		21		8.5	1.3	8	20
	F			4	10	1.5	1	21
	G			46	10	1.5	2	22
S.A.	C	54			15		96	1
	D			4	25	1.7	13	1
H.H.	C	30			19		106	13
	D			93	58	3	17	10

Pat. R.A., männlich, 77 Jahre (Abb. 9).
Ananmnese 1967 Herpeszoster.
CLL-Anamnesedauer 1 Jahr. Vor Behandlungsbeginn mäßige Lymphozytose mit ausgeprägter Anämie und nur geringgradiger Hypogammaglobulinämie. Links axillär und rechts inguinal Lymphknoten tastbar. Milz zwei Querfinger unter dem Rippenbogen vergrößert.
Vor Therapiebeginn starker PHA-Defekt (B). Acht Tage nach der Milzbestrahlung bereits deutliche Steigerung vom Cytidin und Thymidin-Inkorporation (C). Während der nächsten 10 Monate ohne Therapie wieder deutliche Ausprägung des Transformationsdefektes (D), der sich während der zweiten Milzbestrahlungsserie noch gering verstärkte (E). 69 Tage nach Ende der Bestrahlung jedoch deutliche Steigerung der Thymidin-Inkorporation (F).

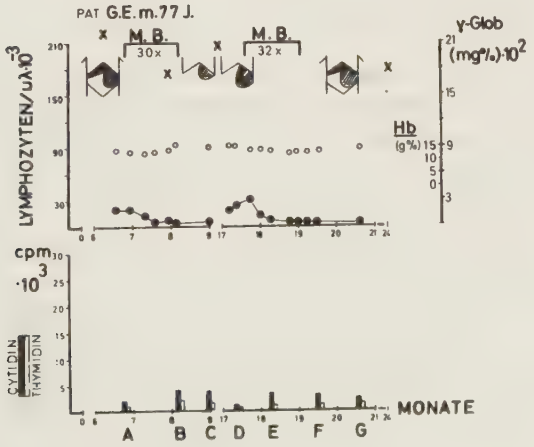


Pat. K.F., männlich, 62 Jahre (Abb. 10 links).
Anamnese unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 1 Jahr, keine Vorbehandlung. Vor Behandlungsbeginn nur mäßige Lymphozytose bei extrem ausgeprägter Anämie und starker Thrombozytopenie. Milz gut Handbreit unter dem Rippenbogen vergrößert tastbar.
Vor Beginn der Milzbestrahlung starker PHA-Transformationsdefekt (A). Bereits kurz nach Ende der Bestrahlungsserie wurde eine massive Steigerung der Thymidin-Inkorporation bis in den Normbereich festgestellt (B). Noch nach 480 Tagen bestand eine auf das 4fache des Ausgangswertes gesteigerte Transformationsfähigkeit ohne weitere Therapie bei niedrigbleibenden Lymphozytenwerten (C).

Pat. M.M., männlich, 52 Jahre (Abb. 10 rechts).
Anamnese 1944 Appendektomie, 1947 2/3-Resektion des Magens (Ulcus Ventriculi), 1966 Cholecystektomie.
CLL-Anamnesedauer etwa 1 Jahr. Keine Vorbehandlung.
Vor Behandlungsbeginn starke Lymphozytose mit Anämie.
Splenogigantismus (Milz 20 cm tastbar vergrößert).
Stark ausgeprägter PHA-Transformationsdefekt vor der Milzbestrahlung (A). 19 Tage nach der letzten Bestrahlung Steigerung der Thymidin-Inkorporation in den Normbereich auf das 9fache des Ausgangswertes (B).



Pat. G.E., männlich, 77 Jahre (Abb.11).
Anamnese: Schwester an Leukämie (CLL) gestorben.
1955 Hepatitis.
CLL-Anamnesedauer 2 Jahre. Keine Vorbehandlung.
Vor Behandlungsbeginn mäßige periphere Lymphozytose bei ausgeprägter Anämie und Thrombozytopenie. Splenogigantismus (Milz 21 cm tastbar vergrößert).
Vor Milzbestrahlungsbeginn stark erniedrigte PHA-Transformation (A), die sich unmittelbar nach der Bestrahlung verbessert (B), aber bereits 27 Tage später wieder abnimmt (C). Nach einem halben Jahr wieder erneute Milzvergrößerung (20 cm) bei gleichzeitig massiver PHA-Depression (D). Während einer zweiten Milzbestrahlung nur mäßiger Anstieg der Nukleosid-Inkorporation (E), die sich auch 4 Tage (F) und 46 Tage (G) nach der letzten Bestrahlung nicht verstärkt. Die Milzgröße blieb ebenfalls unbeeinflußt.



Pat. S.A., weiblich, 75 Jahre. (Bezüglich Anamnese und Vorbehandlung s. Text und Abbildung S. 26).
Nach letzter ECIB-Serie zusätzlich zur peripheren Lymphozytose Milzvergrößerung. Vor Milzbestrahlung schlechte PHA-Transformation (C), die 4 Tage nach Bestrahlung verbessert ist (C).

Pat. H.H., weiblich, 55 Jahre. (Bezüglich Anamnese und Vorbehandlung s. Text und Abbildung S. 22).
Zusätzlich zur erneuten peripheren Lymphozytose jetzt Splenomegalie (Milz 13 cm tastbar vergrößert). Vor Milzbestrahlung mittelgradiger Transformationsdefekt (C), in der Kultur 93 Tage nach der letzten Milzbestrahlung deutliche Steigerung der PHA-Transformation in den unteren Normbereich (D).

Zusammenfassung der Ergebnisse bei Milzbestrahlung

Während der Bestrahlungsserie zeigen bestimmte Werte keine oder nur geringfügige Erniedrigung gegenüber den Ausgangswerten. Nach Ende der Therapieserie wurde in allen Fällen schon nach 1 bis 8 Tagen eine deutliche Steigerung des ^{3}H-Thymidin-Einbaus auf das 2- bis 8fache des Ausgangswertes gemessen. Bei extremer und schwer beeinflußbarer Splenomegalie (GE) war diese Steigerung am geringsten ausgeprägt. Diese Verbesserung der Transformierbarkeit war noch über längere Zeiträume (70, 93, 480 Tage) feststellbar.

III. Verläufe bei zytostatischer Therapie

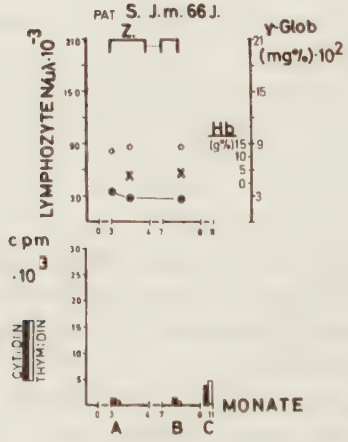
Die Art und Dosierung der zytostatischen Therapie werden bei der Vorstellung der Patienten aufgeführt. Die experimentellen Daten sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4

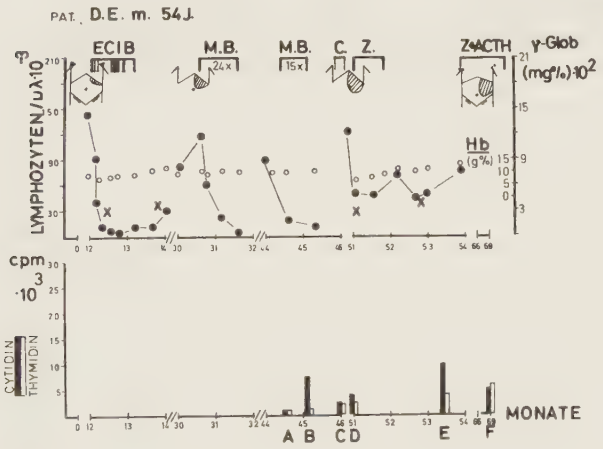
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Patient	PHA Kultur	T A G E vor	während	nach	$\frac{^3H\text{-Thymidin}}{10^2}$	Quotient	$\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	Milzgröße (cm)
S.A.	E	153			11		48	2
	F			43	35	3.5	4	1
	G			56	66	6.6	3	1
	H			176	60	6	11	1
S.J.	A	1			10		27	
	B		132		8	0.8	28	
	C			46	49	4.9	45	
D.E.	D	1			25		125	18
	E			53	65	2.6	49	7

Pat. S.A., weiblich, 75 Jahre. (Bezüglich Anamnese und Vorbehandlung s. Text und Abbildung S. 20).
Nach therapiefreiem Intervall erneut Lymphozytose und multiple Lymphknoten.
Vor Zytostatikatherapie minimale PHA-Transformation (E). Über 6 Monate auswärts Einnahme von 8 mg Chlorambucil pro Tag. 43 Tage nach Absetzen des Alkylanz Steigerung der Thymidin-Inkorporation auf das 3,5fache des Ausgangswertes vor Zytostatika-Therapie (F), die sich am 56. Tag bis in den Normbereich entwickelt hatte (C). Etwa gleichbleibende gute PHA-Transformation auch bei Kontrolle noch 176 Tage nach zytostatischer Therapie (H).

Pat. S.J., männlich, 66 Jahre (Abb.12).
Anamnese unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 2 Monate. Vor Behandlungsbeginn mäßige Lymphozytose mit leichter Anämie. Beidseits cervical und axillär kirschgroße Lymphome, die rasch größer werden.
Therapie mit 10 mg Vinblastin pro 14 Tage. Starker PHA-Transformationsdefekt vor Therapie (A). Zehn Tage nach der 10ten derartigen Injektion gleiche Depression wie anfänglich (B). 46 Tage nach Ende der zytostatischen Behandlung 5fache Steigerung des Nukleosideinbaus (C).



Pat. D.E., männlich, 54 Jahre (Abb. 13).
Anamnestisch wiederholt auftretende Allergien bemerkenswert (Arzneimittel, Impfstoffe).
CLL-Anamnesedauer 4 Jahre. Vorbehandlung ECIB und Milzbestrahlung. Bei strahlenrefraktärer Splenomegalie und jeweils rasch entwickelnder Lymphozytose um 100 000/ ul.
Therapie mit 5 mg Vinblastin pro Woche und 10 mg Chlorambucil pro Tag. Vor Zytostatikatherapie deutliche Erniedrigung der PHA-Transformation (D), 53 Tage danach Steigerung der Thymidin-Inkorporation auf das 2,6fache mit Erreichung unterer Normwerte (E).



Zusammenfassung der Ergebnisse bei zytostatischer Therapie

In jedem der 3 analysierbaren Fälle wurde etwa 2 - 3 Monate nach Therapie eine Steigerung der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation auf das 2,6- bis 6,6fache in der PHA-Kultur gegenüber dem Wert vor zytostatischer Therapie nachgewiesen.

IV. Verläufe bei ACTH-Therapie

Es wurde synthetisches Tetracosactid mit ACTH-Wirkung (43) verwendet. (Cortrophin-S-Depot^{R}: 1 ml enthält 1,42 mg Corticotrophin-Hexaacetat an Zinkchlorid absorbiert). Die maximale Steigerung des Serumcortisolspiegels nach der Injektion von 1 ml wird nach 8 Std. verzeichnet, jedoch liegt sie noch nach 24 Std. über dem Normbereich (50). Initial wurde über 5 Tage täglich 0,1 ml verabfolgt, um dann auf 2mal wöchentlich 0,2 ml überzugehen. Das zur PHA-Kultur vorgesehene Blut wurde jeweils 3 Tage nach einer Injektion abgenommen. Zu diesem Zeitpunkt war bei der Kontrolle des Serumcortisols kein über den Normbereich hinaus gesteigerter Wert nachweisbar.

Die experimentellen Ergebnisse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 5

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Patient	PHA-Kultur	T A G E vor	während	nach	$\frac{^3H\text{-Thymidin}}{10^2}$	Quotient	$\frac{Ly \cdot 10^{-3}}{ul}$	Milzgröße (cm)
P.A.	A	1			34		34	8
	B			30	9	0.26	58	6
	C		60		15	0.4	7	10
	D			60	13	0.4	30	12
S.M.	G	5			10		56	3
	H		17		15	1.5	13	15
	I			12	20	2	10	2
	K			46	29	3	6	3
	L	8			25		8	1
	M		27		8	0.3	5	
	N		61		13	0.5	7	
	O		90		8	0.3	6	
R.A.	F	7			35		13	1
	G		360		23	0.6	27	

Pat. P.A., männlich, 71 Jahre.
Anamnese unauffällig.
CLL-Anamnesedauer 2 Jahre. Vor Behandlungsbeginn mäßige Lymphozytose mit stark ausgeprägter Anämie, Hypogammaglubolinämie und Thrombozytopenie. Beidseits cervicale, axilläre und inguinale Lymphome. Milz vergrößert.
Bei Lymphozytenwerten um 30 000/ ul relativ gute Stimulationswerte (A). Initialer Einsatz von Tetracosactid 0.5 ml pro Tag 10 Tage lang. Noch 30 Tage nach dieser Serie starke Depression auf 1/3 der Ausgangswerte (B), die sich auch unter wöchentlich einmal 1 ml in den nächsten 2 Monaten nicht erholte (C) und noch nach 60 Tagen ausgeprägt nachweisbar war (D). Zunehmende Hypersplenie symptomatik.

Pat. S.M., männlich, 61 Jahre (Anamnese und Vorbehandlung s. Text und Abbildung S. 24).
Vor erster intensiver ACTH-Serie mit 1/2 ml 2tägig über 4 Wochen maximale Depression (G), die sich während der Serie, die zu steilem Lymphozytenabfall führte, nicht deutlich erholte (H) und erst 4 Wochen nach letzter Injektion deutliche Verbesserung über den Ausgangswert hinaus zeigte (I). Nach 46 Tagen war eine Verdreifachung des Thymidin-Einbaus festzustellen (K). Dieser noch nach 1 1/2 Jahren relativ gute Wert (L) wurde durch eine eingesetzte intermittierende Therapie mit 2mal wöchentlich 1 bis 0.5 ml stark deprimiert (M) und erholte sich trotz konstant niedriger Lymphozytenwerte im Laufe des folgenden Halbjahres nicht mehr (N, O).

Pat. R.A., männlich, 77 Jahre (Anamnese und Vorbehandlung s. Text und Abbildung S. 37).
Vor ACTH-Therapie mit 1 ml pro Woche gute Ausgangswerte (F). Nach einjähriger Dauer dieser Therapie unter kompensiert gehaltenen Lymphozytenwerten deutliche Erniedrigung der Nukleosidinkorporation (G).

Zusammenfassung der Ergebnisse bei ACTH-Therapie

In allen Fällen fand sich eine Depression bis auf ein Drittel des anfangs gemessenen Thymidin-Einbaus während des Verabfolgungszeitraums mit intermittierenden Injektionen. In einem nach Absetzen untersuchten Fall folgte nach 12 und 14 Tagen eine Steigerung auf das 2- bis 3fache bei anhaltend niedrigen Lymphozytenwerten.

DISKUSSION

Die in den Befunden gezeigten Veränderungen der PHA-Reaktivität während und nach verschiedenen Therapien und die zusätzlichen Ergebnisse der Rosettenansätze unter dem Einfluß extrakorporaler Blutbestrahlung erlauben folgende Schlüsse, die am ausführlichsten am Modell der ECIB diskutiert werden sollen:

Die während ECIB in den meisten Fällen beobachtete Reduktion der PHA-Reaktion und die in allen drei Fällen gefundene Abnahme an absoluten Rosetten-bildenden T-Lymphozyten erklärt sich naheliegenderweise dadurch, daß noch therapiegeschädigte Zellen zirkulieren. Die Blutentnahme für die PHA- bzw. Rosettenansätze während der Therapieserie erfolgte durchschnittlich ca. 20 Std. nach der vorherigen ECIB-Bestrahlung, die jeweils den größten Teil des zirkulierenden Pools erfaßt haben dürfte. Evans und Norman (29) zeigten 24 Std. nach Bestrahlung normaler menschlicher Lymphozyten ein Absterben zu 50 % in-vitro. Auch die Untersuchungen von Bremer und Mitarb. (17) weisen darauf hin, daß nach einer ECIB-Transitdosis von 400 rad, die über das Doppelte der von uns gewählten Transitdosis (180 rad) betrug, nur 34 bis 70 % der Lymphozyten akut aus der Zirkulation ausscheiden. Zumindest 20 Std. nach Bestrahlung ist also mit einem hohen Anteil strahlengeschädigter Lymphozyten in der Zirkulation zu rechnen.

Zehn Tage nach Bestrahlung ist eine weitgehende Elimination strahlengeschädigter Zellen anzunehmen (81), so daß der Anstieg der PHA-Reaktion in diesem Zeitraum nach ECIB (H.H., S.A.) einer relativen Zunahme funktionstüchtiger T-Zellen entspräche.

Schon Schrek und Stefani (72, 80) zeigten gesteigerte Strahlenresistenz PHA- bzw. tuberkulinsensibler Zellen, und als solche wären ja die T-Zellen gegenüber den übrigen Zellelementen der CLL aufzufassen. Die hohe Strahlensensibilität der Masse der CLL-Lymphozyten gegenüber einer Normalpopulation (mit also nahezu 70 % T-Anteil) ist bekannt (45, 46).

Daneben haben die T-Zellen zirkulationskinetische Vorteile gegenüber den CLL-B-Zellen: Binet und Mitarb. (12) und Bremer und Mitarb. (16) konnten bei CLL eine starke Störung der Rezirkulation markierter, transfundierter Lymphozyten über den Ductus thoracicus zeigen, was den Befunden von Hersey (40) entspricht, wonach die intravasale Masse der CLL-Lymphozyten in schlechtem Austausch mit extravasalen Speichern steht. Flad und Mitarb. (32) präzisierten diese Befunde dahingehend, daß die Zellen, die noch zur Rezirkulation über den Ductus thoracicus bei CLL fähig sind, sich vorwiegend wie normale T-Zellen verhalten, während die Rezirkulationshemmung sich nach Huber (41) auf die CLL-Fraktion beschränkt. Somit könnten sich die T-Zellen selektiv durch Austritt aus der Blutbahn und dem weiteren Rezirkulationsprozeß einer Blutbestrahlung entziehen. Wie groß der Anteil der möglichen Mechanismen (= Strahlenresistenz, etwa durch verbesserte DNS-Reparation (54), oder zirkulatorisches Entkommen) an einer relativen Zunahme des T-Zellanteils nach Bestrahlung ist, muß offenbleiben. Das Argument der Strahlenselektion durch zirkulatorischen Vorteil wird jedoch durch die Ergebnisse von Curtis und Mitarb. (23) und Stacher und Mitarb. (77) unterstützt, die bei Depletion mittels Leukophorese, also ohne die Möglichkeit von Strahlenselektion, starken Anstieg der PHA-Antwort bis in den unteren Normbereich fanden.

Für die zu späteren Zeitpunkten nach ECIB (75, 128, 132 Tage) beobachteten Steigerungen der PHA-Reaktion gegenüber Ausgangswerten, insbesondere aber für den leider zu selten festgehaltenen Anstieg zu späteren gegenüber früheren Zeitpunkten (N.I.: D - E; S.M.: C - D; s. Tab. 1) muß als weiterer Faktor eine raschere Regeneration der T-Zellfraktion gegenüber den pathologischen CLL-Zellen erwogen werden, wie es Kagan und Johnson (48) bei Ganzkörperbestrahlung und Astaldi und Mitarb. (4) nach Röntgenteilbestrahlung annahmen. Die langen Umsatzzeiten der Lymphozyten bei CLL insgesamt sind öfters beschrieben worden (88). Bei den Patienten S.M. und R.A., die nach ECIB und Milzbestrahlung guten PHA-Anstieg boten, erbrachten kinetische Untersuchungen (88) eine durchschnittliche Lymphozytenumsatzzeit von 270 bzw. 420 Tagen, wobei für ca. 95 % aller Zellen noch deutlich längere und für 5 % eine deutlich kürzere (etwa 20tägige Umsatzzeit) zu veranschlagen war.

Da auch Rieke und Schwarz (63) und Stayner und Schwarz (79) im Tierexperiment die stärkste Stimulierbarkeit in der kurzlebigsten Fraktion fanden, könnte raschere Regenerationsfähigkeit der erhaltenen und sich gegenüber den entarteten CLL-B-Zellen wohl selbst regulierenden T-Population in den gefundenen Zeiträumen einen meßbaren Anstieg des T-B-Quotienten und damit der PHA-Reaktivität bringen, bis dieser Effekt in individuell unterschiedlichen Zeiträumen (71) durch die zahlenmäßig mindestens 10mal so große Produktion der langsam regenerierenden CLL-B-Zellen (70, 88) verdünnt wird. Diese zellkinetischen Vorgänge können Anstieg und Abfall der PHA-Rekation nach Depletion bestimmen. Damit stimmt überein, daß die relativ splenomegalen Fälle (M.G., Ho.H., D.H.), in denen der Anstieg der T-Zellaktivität nach ECIB ausblieb, raschen Wiederanstieg der Lymphozytenwerte boten. Dies ist Zeichen einer deutlich anderen

Kinetik als der für S.M. und R.A. exemplarisch gezeigten. Fröhlich und Bock (34) haben mit unseren Befunden übereinstimmend in 2 langsam progredierenden Fällen ohne stärkere Splenomegalie 2 und 5 Wochen nach ECIB eine verbesserte PHA-Reaktion gefunden.

Durch die quantitative Bestimmung der $SRBC_N$-Rosettenbildenden Zellen wurde der T-Zellanteil der Gesamtpopulation der CLL-Lymphozyten kalkulierbarer. Analog den Daten von Catovsky (20) und Mellstedt (52) fand sich in 2 Fällen eine erhöhte absolute Zahl an T-Zellen vor Bestrahlung bei gleichzeitiger starker relativer Verdünnung. Während und/oder nach der ECIB-Serie kam es in allen Fällen zu einer deutlichen, relativen Zunahme der T-Zellfraktion. Gegenüber dem Verhältnis vor Bestrahlung veränderte sich dabei in 2 Fällen die T : B-Zellrelation zugunsten der T-Zellen gemessen an der Gesamtlymphozytenzahl um den Faktor 6,2 bzw. 9,6 (s. Tab. 2).
Diese Befunde stehen in guter Korrelation zu den oben genannten Ergebnissen einer gesteigerten PHA-Reaktion 10 Tage nach ECIB-Behandlung (H.H., S.A.).

Die im Zusammenhang mit ECIB diskutierten Möglichkeiten zur Erklärung einer gesteigerten T-Zellaktivität nach Behandlung (unterschiedliche Strahlensensibilität, zirkulationskinetische oder proliferationskinetische Unterschiede) lassen sich auf die übrigen therapeutischen Verfahren anwenden:
Im Gegensatz zur ECIB war während der Milzbestrahlungsserien keine Verminderung der PHA-Reaktion festzustellen, was sich aus der weit geringeren Menge von Lymphozyten erklärt, die mit niedrigen Dosen pro Behandlung getroffen werden. Hinsichtlich der rasch eintretenden

starken Steigerung schon 1 bis 8 Tage nach der letzten Milzbestrahlung läßt sich nicht entscheiden, ob Strahlenselektion oder Poolverschiebungen (69) sie bedingen. Die Befunde entsprechen den Ergebnissen von Astaldi und Mitarb. (5), die bei 4 Patienten schon wenige Tage nach jeder relativ hoch dosierten Milzbestrahlung deutliche Anstiege des PHA-Blastenindex fanden.

Die konstant nach Chemotherapie nachweisbaren Anstiege lassen sich kaum durch Zytostatikaresistenz der T-Fraktion erklären, für die es keine experimentellen Hinweise gibt (73). Vielmehr wurden die Verbesserungen wie bei Bouroncle et al. (15) zu Zeitpunkten festgestellt, zu denen sich eine T-Zellpopulation in den oben angegebenen raschen Umsatzzeiten gegenüber einer langsameren B-Population expandiert haben könnte, d. h. ein kinetischer Vorteil der T-Fraktion käme auch hier zutage, wo die Regenerationsfähigkeit der Population nach Zerstörung der Produktionsstätten besonderes Gewicht hat.

Die Depression der PHA-Reaktion unter Dauertherapie mit ACTH-Präparaten entspricht dem bekannten immunosuppressiven Effekt der Nebennierenrinden-Steroide ganz allgemein und weist auf die spezielle Sensibilität der T-Zellpopulation gegenüber den Stimulationsprodukten des ACTH hin, wie sie schon die Befunde über Thymusinvolution unter ACTH und Prednisolon (28) zeigten. Nach Absetzen manifestiert sich hier offenbar eine funktionelle Entblockung oder ein kinetischer Vorteil der T-Zellpopulation (Patient S.M.), so lange die B-Zellpopulation die typisch langsamen Umsatzzeiten zeigt.

Dem Ziel der Untersuchung entsprechend sollten die therapieinduzierten T-Zellveränderungen im therapeutischen Vorgehen berücksichtigt werden, um den für die Prognose des Patienten letztlich entscheidenden Immundefekt nicht zu verstärken.

Die beim einzelnen Patienten variable Dynamik der pathomechanischen Faktoren, Produktionssteigerung und Abbaustörung der CLL-Lymphozyten, bestimmt das Abwägen von antiproliferativer bzw. depletorischer Therapiemaßnahmen.

Nach den dargestellten Ergebnissen ist die Milzbestrahlung hinsichtlich des Immundefekts die im Applikationszeitraum unschädlichste, folglich förderlichste Maßnahme, während für alle anderen Behandlungsformen (ECIB, Zytostatika, ACTH) zumindest während der Behandlungsserie eine Immunsuppression festgestellt werden kann. Daher wäre für diese letzteren Therapiemaßnahmen möglichst kurzfristige effektive Therapieserien zu fordern.

Nach einer ECIB-Serie kann man aufgrund der festgestellten Steigerung der PHA-Reaktivität bzw. T : B-Zellrelation von einer Verbesserung des Immundefekts ausgehen. Ähnlich läßt sich die nach Zytostatikatherapie festgestellte massive Erhöhung der PHA-Reaktivität interpretieren. Für die kompensationserhaltende ACTH-Therapie folgt im besonderen Maße, nicht durch Dauertherapie den Immundefekt der CLL zu verstärken.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vor, während und nach 21 Therapieserien an insgesamt 16 Patienten gefundenen Veränderungen der T-Zellaktivität in den PHA-Kulturen ergaben eine deutliche Besserung nach extrakorporaler Blutbestrahlung (ECIB) in Fällen mit langsamer Progredienz und ohne ausgeprägte Organomegalie. Darüber hinaus ließ sich durch ECIB in den Rosettentests bei 3 Patienten eine starke relative Konzentrierung der T-Zellfraktion nachweisen. Nach Milzbestrahlung und nach zytostatischer Therapie fand sich in allen Fällen eine Steigerung der PHA-Reaktion. Während der Therapieserien wurde eine Verstärkung der PHA-Depression durch ECIB, Zytostase und ACTH deutlich, während Milzbestrahlung die geringste depressorische Wirkung zeigte. Der positive Effekt auf die T-Zellaktivität läßt sich im wesentlichen durch verbesserte Zirkulations- und Regenerations-Bedingungen der T-Zellfraktion erklären. Dem Ziel der Untersuchung entsprechend, leiten sich unter gleichzeitiger Berücksichtigung der CLL-Kinetik die praktisch therapeutischen Konsequenzen ab: Langsam akkumulative Fälle depletorischer Therapie (ECIB oder Leukophorese) zu unterziehen, bei splenomegalen Fällen die Milzbestrahlung einzusetzen, und bei klinischen Zeichen rascheren Zellumsatzes Zytostatika zu verwenden (83, 86). Für Alkylanzien wie für das kompensationserhaltende ACTH folgt im besonderen Maße, nicht durch Dauertherapie den Immundefekt der CLL zu verstärken, sondern durch effektive Kurzzeittherapie einen Anstieg der zellständigen Immunaktivität zu induzieren.

LITERATUR

1. ABDOU, N.J., ABDOU, N.L.: Bone marrow: the bursa equivalent in man? Science 175, 446 (1972).

2. AISENBERG, A.C., Bloch, K.J.: Immunoglobulins on the surface of neoplastic lymphocytes. New Engl. J. Med. 287, 272 (1972).

3. ASKONAS, B.A., AUZINS, J., UNAMUE, E.R.: Role of macrophages in the immune response. Bull. Soc. Chim. Biol. 50, 1113 (1968).

4. ASTALDI, G., AIRO, R., SAULI, S.: In vitro studies on leukaemic cells. In: Current Research in Leukaemia. Ed. F.G.J. Hayhoe, Cambridge Univ. Press, London 1965, p. 139.

5. ASTALDI, C., AIRO, R., COSTA, C., DUARTE, N.: Milzbestrahlung und immunologische Antwort peripherer Lymphozyten von chronisch-lymphatischen Leukämien. Blut 13, 100 (1966).

6. AUGENER, W., COHNEN, G., BRITTINGER, G.: Correlation of expression of surface membrane markers with different stages of B cell differentiation in malignant lymphomas in man. Fed. Proc. 34, 842 (1975).

7. AUGENER, W., COHNEN, G., BRITTINGER, G.: Binding of aggregated IgG by lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Biomedical Express 21, 6 (1974).

8. BASH, J.A., DURKIN, H.G., WAKSMAN, H.: Kinetic study of T lymphocytes after sensitization against soluble antigen. III. Potentation and Suppression of the PHA Response by Antigen Activated Lymphocytes of low Density. J. Exp. Med. 142, 1017 (1975).

9. BEGEMANN, H.: Prakt. Hämatologie, G. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.

10. BEGEMANN, H., THEML, H., FINK, U.: Die Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie. In: Leukämien und maligne Lymphome. Ed. A. Stacher. Urban - Schwarzenberg, München - Berlin - Wien 1972, S. 293 - 301.

11. BENTWICH, Z., KUNKEL, H.G.: Specific properties of human B and T lymphocytes and alteration in disease. Transplant. Rev. 16, 29 (1973).

12. BINET, J.L., VILLENEUVE, B., BECARD, R., LOGEAIS, Y., LAUDAT, P., MATHEY, J.: Temps de passage dans le canal thoracique des lymphocytes du sang de la leucémie lymphoide chronique. Nouv. Rev. franç. Hémat, 7, 621 (1967).

.../

13. BLOCK, J.B., HYNES, H.A., THOMPSON, W.L., NEIMANN, P.E.: Delyed hypersensitivity in chronic lymphocytic leukemia. J. nat. Cancer Inst. 42, 973 (1969).

14. BOGGS, D.R., SOFFERMAN, S.A., WINTROBE, M.M., CARTWRIGHT, G.E.: Factors influencing the duration of survival of patients with chronic lymphocytic leukemia. Amer. J. Med. 40, 243 (1966).

15. BOURONCLE, B.A., CLAUSEN, K.P., ASCHENBRAND, U.F.: Studies of the delayed response of phytohemagglutinin (PHA) stimulated lymphocytes in 25 chronic lymphatic leukemia patients before and during therapy. Blood 34, 166 (1969).

16. BREMER, L., SCHICK, P., WACK, O., THEML, H., BRASS, B., HEIMPEL, H.: Rezirkulation von Lymphozyten bei Patienten mit malignen lymphatischen Systemerkrankungen, Blut 24, 215 (1972).

17. BREMER, K., HOLLIGER, R., BOCK, O., FRÖHLICH, D., FLIEDNER, T.M., HEIMPEL, H.: Changes in the lymphocyte pools in the course of extracorporal irradiation of the blood (ECIB) in patients with lymphocytic leukemia (CLL). Abst. Europ. Soc. Clin. Invest. 7th Meeting, Rotterdam 1973.

18. BRITTINGER, G.: Die Lymphozytenkultur als in-vitro-Modell immunologischer Vorgänge.
In: Der Lymphozyt. Ed. H. Pietschmann, Verlag Med. Akademie, Wien 1972, S. 297 - 316.

19. BRITTINER, G., AUGENER, W., BREMER, K., COHNEN, G., DABAG, S., FISCHER, K., KÖNIG, E., MEUSERS, P.: Der Lymphozyt bei der chronischen lymphatischen Leukämie. Blut 5, 293 (1975).

20. CATOVSKY, D., MILIANI, E., OKOS, A., GALTON, D.A.G.: Clinical significance of T-cells in chronic lymphocytic leukaemia. Lancet II, 751 (1974).

21. COHNEN, G.: T- und B-Lymphozyten bei chronischer lymphytischer Leukämie und Lymphogranulomatose. In: Veröffentlichungen aus der Phathologie, Heft 97. (Ed. W. Büngeler, M. Eder, K. Lennert, G. Peters, W. Sandritter, G. Seifert) Stuttgart: G. Fischer 1975.

22. CRADDOCK, C.G., LONGMIRE, R., McMILLAN, R.: Lymphocytes and the immune response. N. Engl. J. Med. 285, 324 une 378 (1971).

23. CURTIS, J.E., HERSH, E.M., FREIREICH, E.J.: Leukophoresis therapy of chronic lymphocytic leukemia. Blood 39, 163 (1972).

.../

24. DAVIES, A.J.S.: Thymic hormones? In: Thymus factors in immunity (Ed. H. Friedman) New York Academy of sciences. 249, 61 (1975).

25. DAVIES, A.J.S., LEUCHARS, E., WALLIS, V., DOENHOFF, M.J.: A system for lymphocytes in the mouse. Proc. roy. Soc. B 176, 369 (1971).

26. DAVIS, S.: Hypothesis: Differentiation of the human lymphoid system based on cell surface marker. Blood 45, 871, (1975).

27. DUOGLAS, S.D.: Electron microscopic and functional aspects of human lymphocyte response to mitogens. Transplant, Rev. 11, 39 (1972).

28. DOUGHERTY, T.F., BERLINDER, M.L., BERLINER, D.L.: Hormonal control of lymphocyte production and destruction. Progr. Hemat. 3, 155 (1962).

29. EVANS, R.G., NORMAN, A.: Radiation stimulated incorporation of thymidine into the DNA of human lymphocytes. Nature (Land.), 217, 455 (1968).

30. EVERETT, N.B., TYLER, R.W.: Lymphopoiesis in the thymus and ohter tissues: Functional implications. Int. Rev. Cytol. 22, 205 (1967).

31. FLAD, H.D., HOCHAPFEL, G., FLIEDNER, T.M., HEIMPEL, H.: Blastentransformation und DNS-Synthese in Lymphozytenkulturen von Patienten mit aplastischer Anämie (Panmyelopathie). Acta haemat. (Basel) 44, 21 (1970).

32. FLAD, H.D., HUBER, C., BREMER, K., MENNE, H.D., HUBER, H.: Impaired recirculation of B-lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Europ. J. Immunol. Im Druck.

33. FLIEDNER, T.M.: Hämopoetische Stammzellen: Eine Teilpopulation der "Lymphozyten". In: Lymphozyt und klinische Immunologie. (Ed. H. Theml, H. Begemann) S. 63. Berlin: Springer Verlag 1975.

34. FRÖHLICH, D., BOCK, O.: Ergebnisse bei Langzeitbehandlung chronischer Lymphadenosen mit extrakorporaler Blutbestrahlung. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 524 (1973).

35. GARDNER, J.D., BLANDEN, R.V.: The cell mediated immune response to Ectromelia virus infection. II. Secondary response in vitro and kinetics of memory T cell production in vivo. Cell Immunol. 22, 283 (1976).

.../

36. GERBER, N.L., STEINBERG, A.D.: Physical separation of "suppressor" from "helper" thymocutes. J. Immunol. 115, 1744 (1975).

37. GOWANS, J.L., KNIGHT, E.J.: The route of re-circulation of lymphocytes in the rat. Proc. roy. Soc. B 159, 257 (1964).

38. GREAVES, M.F., ROITT, J.M., ZAMIR, R., CARNAGHAM, R.B.A.: Effect of antilymphocyte serum on response of human peripheral blood lymphocytes to specific and non-specific stimulants in vitro. Lancet 2, 1317 (1967).

39. GREY, H.M. REBELLINO, E., PIROWSKY, B.: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. IV. Distribution in hypogammaglobulinaemia, cellular immune deficiency and chronic lymphatic leukemia. J. clin. Invest. 50, 2368 (1971).

40. HERSEY, P.: The separation and 51-chromium labelling of human lymphocytes with in vivo studies of survival and migration. Blood 38, 360 (1971).

41. HUBER, Ch., HUBER, H., MENNE, H.D., ASAMER, H., FLAD, H.D.: Gestörte B-Zellrezirkulation bei chronischer Lymphadenose. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 547 (1973).

42. HUBER, H. PATHOULI, Ch., HUBER, Ch., MICHLMAYR, G.: Immunpathologie lymphatischer Systemerkrankungen. In: Lymphozyt und klinische Immunologie. (Ed. H. Theml, H. Begemann) S. 96 Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1975.

43. JAMES, V.H.T.: Corticosteroid and corticotrophins. Lancet 2, 588 (1970).

44. JANEWAY jr. C.A., SHARROW, S.O., SIMPSON, E.: T-cell populations with different functions. Nature (London) 253, 544 (1975).

45. JOHNSON, R.R.: Radiosensitivity of leukemic lymphocytes. Cancer Res. 27, 39 (1967).

46. JOHNSON, R.S. KAGAN, A.R., GRALNICK, H.R., FASS, L.: Radiation induced remissions in chronic lymphocytic leukemia. Cancer 20, 1382 (1967).

47. JANOSSY, G., GREAVES, M.F.: Lymphocyte activation. I. Response of T and B lymphocytes to phytomitogens. Clin., exp. Immunal. 9, 483 (1971).

.../

48. KAGAN, A.R., JOHNSON, R.E.: Evaluation of therapy in CLL using in vitro lymphocyte transformation. Radilogy 88, 352 (1967).

49. LENNERT, K., MOHRI, N., STEIN, H., KAISERLING, E.: The histopathology of malignant lymphoma. Br. J. Haematol. 31, Suppl. 193 (1975 a).

50. LIBON, J.C., Borlée, J.: Klinische Untersuchungen mit Cortrophin-S-Depot, einer neuen Retardform eines synthetischen ACTH. Rev. Méd. (Liège) 24, 762 (1969).

51. LOPEZ-SANDOVAL, R., HOUSHANG, M., SOKAL, J.E.: In vitro leukocyte thymidine uptake in chronic lymphocytic leukemia. Cancer Research 34, 146 (1974).

52. MELLSTEDT, H., PETTERSSON, D.: Lymphocyte subpopulation in chronic lymphocytic leukemia. Scand. J. Immun. 3, 303 (1974).

53. MOHR, R.: Über Funktionen von B- und T-Zellen. In: Lymphozyt und klinische Immunologie. (Ed. H. Theml, H. Begemann) S. 27. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1975.

54. NORMAN, A.: DNA repair in lymphocytes and some other human cells. In: DNA Repair Mechanisms. Ed. A. Altmann. Schattauer Verlag, Stuttgart 1971, p. 9.

55. NOWELL, P.C., HIRSCH, B.E. FOX, D.H., WILSON, D.B.: Evidence for the existence of multipotential lymphohematopoietic stem cells in the adult rat. J. Cell Physiol. 75, 151 (1970).

56. OPPENHEIM, I.J., WHANG, J., FREI, E.: Immunologic and cytogenetic studies of chronic lymphocytic leukemic cells. Blood 26, 121 (1965).

57. PAPPAS, A., LENNARTZ, K.J., SCHEURIEN, P.G., FREYBERGER, H.: Proliferationskinetik Phytohämagglutininstimulierter Lymphozyten von Patienten mit chronischer Lymphadenose und Lymphogranulomatose. Med. Welt 22, 123 (1971).

58. PARROT, D.M.V., DE SOUSA, M.: Thymus-dependent and thymus independent populations: Origin, migratory patterns and lifespan. Clin. Exp. Immunol. 8, 663 (1971).

59. PENTYCROSS, C.R.: Lymphocyte transformation in deseases of lymphoid tissue. Proc. roy. Soc. Med. 63, 355 (1970).

.../

60. PERNIS, B. BROUET, J.C., SELIGMAN, M.: IgD and IgM on the membrane of lymphoid cells in macroglobulinemia. Evidence for identity of membrane IgD and IgM antibody activity in a case with anti - IgG receptors. Europ. J. Immunol. 4, 776 (1974).

61. PIERCE, C.W., PEAVY, D.L., TADAKUMA, T.: Suppressor T cells as regulators of lymphocyte functions. Ann. N.Y. Acad. Sci. 256, 365 (1975).

62. RAFF, M.C.: T and B lymphocytes and immune responses. Nature (London) 242, 19 (1973).

63. RIEKE, W.O., SCHWARZ, M.R.: The proliferative and immunologic potential of thoracic duct lymphocytes from normal and thymectomized rats. In: The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis. Ed. J.M. Yoffey, Arnold, London 1967, p. 224.

64. RÖPKE, C. HOUGEN, H.P., EVERETT, N.B.: Longlived T and B lymphocytes in the bone marrow and thoracic duct lymph of the mouse. Cell. Immuno. 15, 82 (1975).

65. ROSS, G.D. RABELLINO, E.M., POLLEY, M.J., GREY, H.M.: Combined studies of complement receptor and surface immunoglobulin-bearing cells and sheep erythrocyte rosette-forming cells in normal and leukemic human lymphocytes. J. clin. Invest. 52, 377 (1973).

66. RUBIN, A.D., HAVEMANN, K., DAMESHEK, W.: Studies in chronic lymphocytic leukemia: Further studies of the proliferative abnormality of the blood lymphocyte. Blood 33, 308 (1969).

67. RUBIN, A.D., JOHNSON, L.I., BROWN, S.M.: Lymphocyte proliferation in lymphoproliferative disorders. Progr. exp. Tum. Res. 13, 135 (1970).

68. SCHEURLEN, P.G., PAPPAS, A., LUDWIG, T.: Stimulation der Blutlymphocyten durch Phytohämagglutinin bei chronischer Lymphadenose, Lymphosarkomatose und Lymphogranulomatose. Klin. Wschr. 46, 483 (1968).

69. SCHICK, P., THEML, H., KABOTH, H., CZEMPIEL, H., BEGEMANN, H., FLIEDNER, T.M., MAILLI, B., ZELLNER, J., BREMER, K., BOCK, O.: Einflüsse von extrakorporaler Blutbestrahlung und Milzbestrahlung auf in vitro markierte und autotransfundierte Blutlymphozyten von CLL-Patienten. In: Leukämien und maligne Lymphome. Ed. A. Stacher, Urban und Schwarzenberg, München 1972, S. 302 - 307.

.../

70. SCHICK, P.: Proliferationsstörungen bei lymphatischen Systemerkrankungen (chronische lymphatische Leukämie, Lymphogranulomatose). Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 154 (1973).

71. SCHIFFER, L.M.: Observation on the in-vitro measurement of human lymphocyte DNA synthesis time. Cell Tissue Kinet. 4, 597 (1971) b.

72. SCHREK, R., STEFANI, S.: Radioresistance of phytohemagglutinin-treated normal and leukemic lymphocytes. J. nat. Cancer Inst. 32, 507 (1964).

73. SCHWARZ, M.R.: The effect of cyclophosphamide treatment on immunological competence as measured by the mixed lymphocyte reaction. In: The Role of Lymphocytes and Macrophages in the Immunological Response. Ed. D.C. Dumonde. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1971, p.p. 45 - 51.

74. SEN, L., BORELLA, L.: Expression of cell surface markers on T and B lymphocytes after long-term chemotherapy of acute leukemia. Cell. Immunol. 9, 84 (1973).

75. SMITH, J.L., COWLING, D.C., BARKER, C.R.: Response of lymphocytes in chronic lymphocytic leukaemia to plant mitogens. Lancet I, 229 (1972).

76. SPRENT, J., BASTEN, A.: Circulating T and B lymphocytes of the mouse. II. Lifespan. Cell. Immunol. 7, 40 (1973).

77. STACHER, A., HÖCKER, P., GOBETS, M.A.: Therapie chronischer Leukämien durch Leukophorese mittels eines Zellseparators. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 527 (1973).

78. STEIN, H.: Immunchemische und immunzytologische Befunde bei Non-Hodgkin-Lymphomen. In: Maligne Lymphome und monoklonale Gammopathien. (Ed. H. Löffler) S. 167. München: J.F. Lehmanns Verlag 1976.

79. STYNER, L., SCHWARZ, M.R.: The response of long and short lived small lymphocytes of the rat to pokeweed mitogen. J. Immunol. 102, 1260 (1969).

80. STEFANI, S.: Old-tuberculin-induced radioresistance on human lymphocytes in vitro. Brit. J. Haemat. 12, 345 (1966).

.../

81. STRYCKMANS, P.A., CHANANA, A.D., CRONKITE, E.P., GREENBERG, M.L., SCHIFFER, L.M.: Studies on lymphocytes. X. Influence of extracorporeal irradiation of the blood on lymphocytes in CLL: Apparent correlation with RNA turnover. Rad. Res. 37, 118 (1969).

82. STUTMAN, O., YUNIS, E.J., GOOD, R.A.: Studies on the thymus function. I. Cooperative effect of thymic function and lymphohemoietic cells in restoration of neonatally thymectomized mice. J. Exp. Med. 132, 583 (1970).

83. THEML, H.: Die Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 323 (1973).

84. THEML, H.: Untersuchungen zur Proliferationskinetik der chronischen lymphatischen Leukämie, Habilitationsschrift 1978 München.

85. THEML, H., BEGEMANN, H., CZEMPIEL, H., PICHMAIER, H.: Clinical and experimental results with extracorporeal irradiation of blood in the treatment of chronic lymphocytic leukaemia. Abstr. 5th Congr. Hungarian Haematological Society, Budapest 1971, p. 95.

86. THEML, H., KABOTH, W.: Die Behandlung von chronischen Leukämien. Münch. med. Wschr. 18, 843 (1973).

87. THEML, H. SCHICK, P., KABOTH, W., BEGEMANN, H.: Veränderungen der PHA-Stimulierbarkeit von CLL-Lymphocyten unter extracorporaler Bestrahlung. In: Leukämien und maligne Lymphome. Ed. A. Stacher, Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1972, S. 308 - 313.

88. THEML, H., TREPEL, F., SCHICK, P., KABOTH, W., BEGEMANN, H.: Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Studies using continuous ^{3}H-thymidine infusion in two patients. Blood 42, 623 (1973).

89. THONG, Y.H., BINDER, R.A., SVERAK, L.Z., BELLANTI, J.A.: Functional studies of T and B lymphocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia. Southern Medical Journal 67, 138 (1974).

90. TREPEL, F.: Kinetik lymphatischer Zellen. In: Lymphozyt und klinische Immunologie. (Ed. H. Theml, H. Begemann) S. 16 Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1975.

91. TREPEL, F., SCHICK, P.: Dynamik im lymphatischen Zellsystem. Kinetik und Regulation der Lymphozyten. Med. Klin. 70, 581 (1975).

92. TREPEL, F., SCHICK, P.: Proliferation und Wachstum von lymphatischen Zellpopulationen bei malignen Lymphomen. In: Maligne Lymphome und monoklonale Gammopathien. (Ed. H. Löffler) S. 33. München: J.F. Lehmanns Verlag 1976.

93. VITETTA, E.S., GRUNDKE-IQBAL, I., HOLMES, K.V., UHR, J.W.: Cell surface immunoglobulin. VII. Synthesis shedding and secretion of immunoglobulins by lymphoid cells of germfree mice. J. Exp. Med. 139, 862 (1974).

94. WAGNER, H. RÖLLINGHOFF, M.: Secondary cytotoxic allograft responses in vitro. II. Differentiation of memora T cells into cytotoxic T lymphocytes in the absence of cell proliferation. Europ. J. Immunol. 6, 15 (1976).

95. WILSON, J.D., NOSSAL, G.J.V.: Identification of human T and B lymphocytes in normal peripheral blood and in chronic lymphocytic leukaemia. Lancet 2, 788 (1971).

96. WU, A.M., TILL, J.E., SIMINOVITCH, L., McCULLOCH, E.A.: Cytologicyl evidence for a relationship between normal hematopoietic colony-forming cells and cells of the lymphoid system. J. exp. Med. 127, 455 (1968).

97. WYBRAN, J., CHANTLER, Sh.: Isolation of normal T cells in chronic lymphatic leukaemia. Lancet 1, 126 (1973).

98. ZIMMERMAN, A., BRUN DEL RE, G., BÜRKI, H., KELLER, H.U., HESS, M.W., COTTIER, H.: Lymphozytenformen - Morphologische und funktionelle Charakterisierungsmöglichkeiten, Herkunft und Entwicklung. In: Lymphozyt und klinische Immunologie. (Ed. H. Theml, H. Begemann) S. 2. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1975.

LEBENSLAUF

Rolf Dieter Josef Issels, geboren am 25. 4. 1948
in Mönchengladbach als Sohn des Dr. med. Josef Issels
und seiner Frau Irmengard, geborene Linder

Besuch der Volksschule Tegernsee von 1954 - 1958

Nach der Absolvierung des humanistischen Max - Gymnasiums
in München Reifeprüfung 1967

Mit dem Wintersemester 1967/68 Beginn des Studiums der
Humanmedizin an der Universität Tübingen

Sommersemester 1968 zusätzlich Beginn des Studiums
der Biochemie

1970 Physikum in Tübingen

1972 Vordiplom I. und II. Teil Biochemie in Tübingen

1971 Beginn der Dissertationsarbeit: Beeinflussung der
T-Zellaktivität bei chronischer Lymphadenose durch
verschiedene Therapieformen

Seit April 1973 Stipendiat der Studienstiftung des
Deutschen Volkes

30. Jan. 75 Medizinisches Staatsexamen an der Universität
München

1975/76 Absolvierung der Medizinalassistentenzeit
(Hämatologie - Onkologie, Prof. Begemann,
8 Monate, Chirurgie, 4 Monate)

28. Jan. 77 Approbation als Arzt

Seit Wintersemester 75/76 Fortsetzung des Studiums der
Biochemie in München und Tübingen

Okt. 1978 Biochemie - Diplomprüfung

München, den 25. 10. 1978 (Rolf Issels)

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. H. Begemann für die Überlassung des Themas sehr herzlich danken.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. H. Theml gilt mein ganz besonderer Dank für seinen Rat und Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.